ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. III No 2

1 9 5 4

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INST.
12 OCT 1954

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej oraz referaty przeglądowe nigdzie dotychczas nie opublikowane.

Jednostronne maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm należy przesyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Zakład Mikrobiologii Ogólnej UMCS, Lublin, Al. Racławickie 20.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie oraz angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski, niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie i rosyjskie lub polskie i angielskie (francuskie, niemieckie). Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł w języku publikacji oraz streszczenia, nazwisko i inicjały autora(ów), nazwę i adres zakładu w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania; c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenie obcojęzyczne (nie dłuższe niż 15% tekstu).

Prace należy ujmować treściwie; wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisać krótko; tam, gdzie to możliwe, powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze i istotne wyniki. Rysunki i wykresy należy sporządzać w dwukrotnym powiększeniu, tuszem na bristolu bez połysku — każdy na oddzielnej kartce, zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołówkiem: tytuł pracy, nazwisko autora oraz nr rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem nru rysunku i wykresu W objaśnieniach należy podawać powiększenie. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia) oraz dołączyć wykaz tablic i rysunków z podaniem numeracji i miejsca w tekście.

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podawać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Cienkowski (18..) lub (Cienkowski 18..). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a, 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), kropka, rok, kropka, tytuł pracy, nazwę czasopisma w przyjętych skrótach, tom, ewentualnie zeszyt, stronicę czasopisma: w wypadku zaś cytowania książki: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), rok wydania, tytuł książki, wydanie, miejsce i firmę wydawcy, ewentualnie stronicę tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml a nie ccm, g — a nie gr, 100° — a nie 100°C, M-molarny, N-normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżniać „%" — g na 100 g roztworu, „% objętościowy" — ml na 100 ml roztworu, „stężenie %" — g na 100 ml rozpuszczalnika.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich.

W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 25 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może zwrócić się do redakcji przy składaniu maszynopisu.

Członkowie Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów otrzymują *Acta* bezpłatnie, po przekazaniu dodatkowej składki rocznej w wysokości 28.— zł, do Sekcji Mikrobiologii Ogólnej PTM (adres: Redakcja Acta Microbiol. Polon., Lublin, Al. Racławickie 20).

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. III No 2

1954
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek korespondent PAN — Lublin, Kazimierz Bassalik, członek tytularny PAN — Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Adolf Joszt — Gliwice, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Lublin, Eugeniusz Pijanowski — członek-korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa.

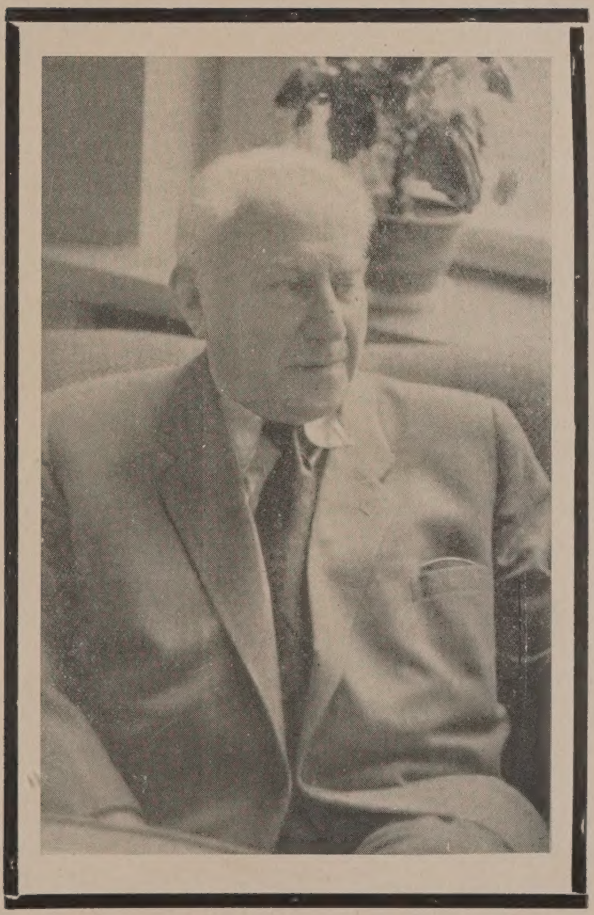
KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Sekretarz Redakcji — Kazimierz Dygdała

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1954

Nakład 958 + 75 egz. + 25 odb.	Oddano do składania 19.2.54
Ark. wyd. 10, druk. 7¼	Podpisano do druku 10.5.54
Papier druk. bezdrz. III kl. 80g, 70×100	Druk ukończono 15.5.54
Cena zł. 10.—	Zamówienie 221c/54 5-B-14000

Drukarnia im. Rewolucji Październikowej, Warszawa



Prof. dr Ludwik Hirszfeld

H. Makower

LUDWIK HIRSZFELD

(Wspomnienie)

Nauka polska poniosła niepowetowaną stratę; zmarł profesor Ludwik Hirszfeld, wielki uczony i organizator nauki, łączący niezwykłe zdolności teoretycznego opracowywania zagadnień z umiejętnością praktycznego ich wykorzystania dla dobra człowieka.

Należał do protagonistów młodej nauki o grupach krwi i w dziedzinie tej poczynił największe odkrycia. Jego kariera naukowa prowadziła od skromnej asystentury w Heidelbergu, gdzie z nauczycielem swym i przyjacielem Emilem Dungernem wykrył dziedziczenie grup krwi (a właściwie substancji grupowych) — poprzez docenturę w Zurychu, gdzie z Klingerem opracował podstawy fizykochemiczne zjawisk serologicznych — poprzez pola bitew w Macedonii, gdzie z małżonką swą, Hanną Hirszfeldową wykrył różnice w składzie grupowym różnych populacji ludzkich, stając się przez to twórcą sero-antropologii.

Po powrocie do kraju po I wojnie światowej rozpoczyna owocną działalność w Państwowym Zakładzie Higieny, którego jest jednym z organizatorów. Tu w latach dwudziestych i trzydziestych powstaje szereg cennych prac nad grupami krwi, nad transfuzją, szczepieniami przeciwbłoniczymi, serologią konstytucyjną, aglutynacją bakterii, serologią raka i tkanki nekrotycznej, nad ekologicznym ujęciem współżycia zarazków z makroorganizmem.

Przez wiele lat profesor Hirszfeld wykłada w Wolnej Wszechnicy Polskiej i prowadzi wykłady zlecone na Wydziale Farmacji. Dopiero na krótko przed II wojną światową otrzymuje katedrę na tym wydziale.

Okupant wyrzuca profesora z PZH, terenu jego wieloletniej działalności, a po roku zmusza do osiedlenia się w getcie warszawskim. Tu Ludwik Hirszfeld gromadzi dokoła siebie uczniów i współpracowników, rozpoczyna z powrotem działalność pedagogiczną i naukową, przyjmuje udział w zwalczaniu szalejącej tam epidemii duru plamistego. Dzięki przyjaciołom udaje mu się z rodziną latem tragicznego roku 1942, podczas rozpoczynającego się „wy-

siedlania" Żydów z getta warszawskiego do Treblinki, uciec ze skazanej na zagładę dzielnicy.

Pisze podczas wojny „Immunologię ogólną" oraz swoje wspomnienia „Historię jednego życia".

W sierpniu 1944 roku, natychmiast po wyzwoleniu, zgłasza się do pracy w Lublinie, gdzie organizuje wydział lekarski, rozpoczyna wykłady, prowadzi ćwiczenia.

Ale już latem roku 1945 czekają go nowe zadania. Powołany zostaje przez Rząd do zorganizowania wydziału lekarskiego w dopiero co wyzwolonym Wrocławiu. Tu tworzy Zakład Mikrobiologii, który po ośmiu latach przekształcony zostaje w Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk, któremu Prezydium PAN nadało obecnie nazwę Instytutu im. Ludwika Hirszfelda.

Z prac okresu wrocławskiego wspomnieć należy o wprowadzeniu do Polski metodyki badań nad czynnikiem Rh, o badaniach nad erytroblastozą i jej zwalczaniem za pomocą transfuzji wymiennych, a przede wszystkim o pracach nad etiopatogenezą poronień nawykowych na tle mechanizmu konfliktów serologicznych i powstających na ich tle procesów alergicznych. Skutkiem tej koncepcji teoretycznej było wprowadzenie do praktyki lekarskiej metody leczenia poronień nawykowych tego typu za pomocą środków przeciwalergicznych. Te prace ostatnie profesor Hirszfeld cenił szczególnie wysoko. Bezpośrednie odczuwanie, że pomaga bliźnim przez ratowanie małych istotek, skazanych na zagładę, było dla niego źródłem wielkiej radości.

Podczas ostatniej, ciężkiej choroby nie przestawał pracować nad monografią, w której zamierzał zebrać wszystkie materiały naukowe, tyczące się patologii ciąży na tle konfliktów serologicznych.

Dorobek naukowy profesora Hirszfelda był nawet czysto ilościowo olbrzymi: blisko 300 prac, w tym kilka książek.

Wartość dokonanych przez Ludwika Hirszfelda odkryć, wskazanie nowych kierunków i dróg badawczych stawia Go w rzędzie najwybitniejszych uczonych świata.

R. Majchrzak

UCHWAŁY IX PLENUM KC PZPR A NIE WYKORZYSTANE REZERWY MIKROBIOLOGICZNE ROLNICTWA I PRZEMYSŁU

Z Zakładu Mikrobiologii Technicznej SGGW w Warszawie
Wpłynęło 4.III.1954 r.

Celem socjalizmu — w myśl podstawowego prawa ekonomicznego — jest maksymalne zaspokojenie stale rosnących materialnych i kulturalnych potrzeb ludności.

Drogą wiodącą do osiągnięcia tego celu jest wszechstronny rozwój i przebudowa gospodarki narodowej w oparciu o nowoczesną technikę i naukę.

Wobec poważnej dysproporcji między rozwojem przemysłu i rolnictwa IX Plenum KC PZPR (29 i 30.X.53) po zanalizowaniu sytuacji ujawniło szereg przyczyn tego stanu w rolnictwie, wskazało dotychczasowe błędy i wypaczenia w realizacji polityki partii i rządu na wsi, oraz nakreśliło zadania rozwoju rolnictwa w latach 1954 — 1955.

W ciągu najbliższych 2 lat (1954 — 1955) globalny wzrost produkcji rolniczej ma wynieść około 10%, a więc ma być taki, jaki osiągnięto w ciągu ostatnich 4 lat.

Wykonanie tego zadania powinno się wyrazić przede wszystkim we wzroście plonów roślin i w zwiększeniu bazy paszowej, a w związku z tym w dalszym rozwoju hodowli.

Dla wykonania tych zadań w tak krótkim okresie czasu IX Plenum zaleca między innymi szereg zabiegów bezpośrednio lub pośrednio związanych z mikrobiologią rolniczą, jak: zwiększenie stosowania nawozów sztucznych i naturalnych, wapnowanie gleb kwaśnych, właściwe przechowanie obornika, stosowanie nawozów zielonych, mieszanie nawozów fosforowych z obornikiem i kompostem, rozszerzenie uprawy łubinu i wyki ozimej, wykorzystanie krajowych złóż fosforytów, właściwe przygotowanie, przechowywanie, przetwarzanie i wykorzystanie pasz przez znaczne zwiększenie ilości kiszonek (2 — 3 tony kiszonek rocznie na krowę).

Z racji ogromnej roli, jaką odgrywają drobnoustroje w rolnictwie, przypada mikrobiologii rolniczej zasadniczy udział w podniesieniu produkcji rolniczej, przewidzianym przez IX Plenum.

Jeżeli rozważyć, że zachodzące w glebie, oborniku, kiszonkach itd. procesy mikrobiologiczne dotyczą każdego gospodarstwa, to jasne się stanie, jak ogromne straty można spowodować w rolnictwie przez lekceważenie roli drobnoustrojów lub przez ich nieumiejętne wyzyskanie.

Umiejętność więc kierowania procesami mikrobiologicznymi stanowi jedną z pierwszych i podstawowych rezerw mikrobiologicznych rolnictwa, mało dotąd w Polsce wykorzystanych.

Aby uruchomić tę rezerwę rolnictwa należałoby spopularyzować podstawowe wiadomości z mikrobiologii rolniczej, a zwłaszcza z mikrobiologii gleby.

Drugą rezerwę mikrobiologiczną rolnictwa nie wykorzystaną dotąd w Polsce stanowią szczepionki dla roślin motylkowych (nitragina). Mimo jednak, iż wieloletnie doświadczenia nad zastosowaniem szczepionek zarówno w kraju, jak i za granicą wykazały, że powodują one wzrost plonów średnio o 20% w stosunku do roślin motylkowych nieszczepionych i mimo że są one powszechnie stosowane od lat z dobrym skutkiem w ZSRR i w innych krajach, w Polsce dotychczas nie ma nitraginy na rynku [1].

Jak wielkie straty ponosi gospodarka narodowa na skutek niestosowania szczepionek oraz jak wielkie tkwią tu potencjalne możliwości, wskazuje podana poniżej tabela.

Przyrost plonu pod wpływem szczepienia
(doświadczenia polskie w latach 1948 — 50)

Roślina	Uprawa na	Liczba doświadczeń	Średni przyrost plonu pod wpływem szczepienia w %
łubin	ziarno	3	17,0
„	zieloną masę	5	17,6
seradela	„ „	4	13,7
koniczyna	„ „	5	12,4
łucerna	„ „	2	12,0
groch	ziarno	2	13,5
„	słomę	1	10,0
fasola	ziarno	2	26,5

(Dane Działu Mikrobiol. Roln. IUNG w Puławach).

Oprócz bezpośredniego dodatniego wpływu na plon motylkowych szczepionka podnosi jeszcze wydajność roślin następujących w płodozmianie po motylkowych, przy czym zwyżka ta może być znaczna.

Tak np. w doświadczeniach Aleksiejewa (USRR) łubin, uprawiony na zielony nawóz i nie szczepiony podniósł plon następującego po nim żyta o 30%, zaś łubin nitraginizowany spowodował wzrost o 109%.

Poza tym szczepionka pośrednio przyczynia się do niszczenia chwastów, ponieważ rośliny zaszczepione rozwijają się silniej i tworzą gęsty, dobry porost, a tym samym zagłuszają chwasty.

Według obserwacji Miniewicza łubin nitraginizowany zagłuszył chwasty, natomiast łubin sąsiedniej działki — nieszczepiony — dał porost rzadszy i wykazał duże zachwaszczenie.

Dalszą właściwością nitraginy jest to, że podnosi ona nie tylko ilość zbioru, lecz także i jego jakość, zwiększając w nim zawartość substancji białkowych.

Lucerna nie szczepiona zawierała azotu (w %% s. m.) 1,50% w części

[1] Obecnie powstaje wytwórnia w W.

nadziemnej i w korzeniach 0,70%, zaś lucerna zaprawiona nitraginą zawierała odpowiednio 2,56% i 2,17%.

Szczepionki dla roślin motylkowych są więc rezerwą mikrobiologiczną rolnictwa, której uruchomienie przyczyniłoby się w dużym stopniu do wykonania zadań nałożonych na rolnictwo przez IX Plenum.

Przy uruchomieniu rezerw rolnictwa powinna obowiązywać zasada stosowania pewnej hierarchii, przy czym dla osiągnięcia planowanej zwyżki plonów należałoby uruchomić przede wszystkim te rezerwy, które kosztują rolnictwo najtaniej, a do tych niewątpliwie należy nitragina.

Wydatki związane z uruchomieniem, wytwarzaniem i stosowaniem szczepionek są znikomo małe w stosunku do korzyści, które odnieść może rolnictwo. Dlatego też w hierarchii rezerw rolnictwa powinna nitragina znaleźć się na jednym z pierwszych miejsc jako tani i wypróbowany w praktyce środek zwiększający wydatnie plony roślin.

W wypadku gdyby wytwórnia nie była na czas uruchomiona, mikrobiologia rolnicza rozporządza zastępczymi szczepionkami.

Jako namiastkę nitraginy stosuje się tzw. „szczepionki gospodarcze", które rolnik przygotowywać może we własnym gospodarstwie.

„Szczepionki gospodarcze" są to korzenie (wraz z brodawkami) roślin motylkowych, zebrane w roku poprzednim, przechowywane w stanie wysuszonym lub jako kompost (Krasilnikow).

„Szczepionki gospodarcze" wykazują zalety i wady. Zaletą ich jest: 1) że można je przygotowywać we własnym gospodarstwie, 2) że bakterie nie rozwijają się na sztucznym podłożu oraz 3) że zawierają bakterie przystosowane do miejscowych warunków. Natomiast wadą ich jest to, że nie są kontrolowane mikrobiologicznie, a w związku z tym mogą okazać się nieaktywne, a ponadto stać się rozsadnikiem bakteriofagów i grzybów chorobotwórczych.

Miszustin przyznaje pewną wartość „szczepionkom gospodarczym", jednak za pewniejsze uważa szczepionki laboratoryjne, czyli nitraginę.

Dwuletnie doświadczenia polskie w Puławach, przeprowadzone z grochem zaprawionym szczepionką laboratoryjną i gospodarczą, nie wykazały istotnych różnic w działaniu obu typów szczepionek.

Za granicą gdzieniegdzie stosuje się jeszcze wiele innych szczepionek pożytecznych bakterii, np. azotobaktera, bakterii siarkowych udostępniających fosforany, amonifikatorów, nitryfikatorów. Szczepionki te jednak nie zostały w Polsce wypróbowane dostatecznie i obecnie nie nadają się jeszcze do masowego stosowania.

Poza „nawozami bakteryjnymi" na podniesienie żyzności gleby wpływa zasadniczo stosowanie nawozów organicznych w postaci obornika, kompostów i nawozów zielonych. W związku z powyższym uchwały IX Plenum zalecają mieszanie nawozów fosforowych z obornikiem lub kompostem i szersze zakładanie pryzm kompostowych.

Zadaniem mikrobiologii byłoby więc dokładniejsze zbadanie naturalnej mikroflory obornika i kompostów oraz intensywności zachodzących w nich procesów.

Dałoby to możność wykorzystania jako nawozu odpadków z gospodarstw rolnych, ścieków i śmieci; szersze stosowanie „sztucznego obornika", pełniejsze wyzyskanie naturalnego obornika przez zastosowanie beztlenowej jego fermentacji z jednoczesnym otrzymaniem dużych ilości materiału opałowego (biogaz).

Jednym z czynników żyzności gleby jest jej odpowiednie pH, co w przypadku gleb kwaśnych łączy się z wapnowaniem gleby. Praktyka wykazuje, że rolnicy często wapnują gleby alkaliczne, nie wapnują zaś gleb kwaśnych. Aby na tym odcinku wprowadzić zasadniczą zmianę trzeba, by „próba azotobaktera" trafiła pod strzechy". Próba ta wykazuje zapotrzebowanie gleby na fosfor i wapń, a jest tak prosta w wykonaniu i interpretacji, że nie trudno ją będzie zastosować w terenie.

Jak wynika z powyższych rozważań mikrobiologia rolnicza na obecnym etapie powinna pracować dwukierunkowo.

Pierwszy front — to praca teoretyczna, kontynuacja prac objętych dotychczasowym planem badań, których wyniki stanowić będą potencjalne przyszłe rezerwy mikrobiologiczne rolnictwa.

Do takich długofalowych zadań mikrobiologii rolniczej mogą należeć zagadnienia takie, jak: rejonizacja nitraginy, granulowanie nawozów bakteryjnych, kompleksowa (kombinowana) nitragina, hamujący wpływ roślin na bakterie motylkowe, mikrobiologiczne metody zwalczania drobnoustrojów chorobotwórczych, szczepionki bakterii fosforowych, azotobaktera, mikrobiologiczne oznaczanie potrzeb nawozowych gleb, mikoryza leśna, łąkowa i roślin uprawnych, mikoryzacja roślin uprawnych i siewek drzew, mikroflora rizosfery i jej wpływ na rośliny, wytwarzanie ciał wzrostowych i antybiotycznych przez drobnoustroje, mikrobiologia obornika, kompostów i nawozów zielonych.

Do podniesienia produkcji rolniczej prowadzić powinny też badania fitopatologiczne, zdążające do poznania rozprzestrzenienia i nasilenia chorób wirusowych, bakteryjnych i grzybkowych roślin oraz metod zwalczania tych schorzeń.

Drugi front — to praca praktyczna, popularyzatorska i organizacyjna, mająca na celu wprowadzenie w życie tych osiągnięć mikrobiologii rolniczej, które na tyle dojrzały, że już w ciągu 1954 i 1955 roku mogą być przekazane praktyce rolniczej do stosowania.

Praca popularyzatorska powinna być dwustopniowa i wyrazić się w wydaniu broszur dwojakiego rodzaju: broszur roboczych i broszur wyjaśniających.

Masowo należałoby wydać broszury robocze, podające gotowe recepty na wykonanie danych zabiegów. Broszura taka byłaby zbiorem krótkich instrukcji podających np. cel zabiegu, wykonanie i spodziewany wynik. Broszury te nie podawałyby żadnych wyjaśnień.

Natomiast broszury drugiego typu (wyjaśniające) podawałyby oprócz recept i odpowiednie wyjaśnienia, przy czym ich nakład mógłby być znacznie mniejszy od masowego nakładu broszur pierwszego typu.

Dzięki takiej organizacji mikrobiologia rolnicza wypełni zarówno swe zadania teoretyczne, badawcze, jak i zadania praktyczne, popularyzatorskie, a tym samym włączy się jako jedno z ważniejszych ogniw do realizacji uchwał IX Plenum.

*

Z uchwał IX Plenum wynikają również i dla mikrobiologii przemysłowej określone zadania, skupiające się ogólnie w dwóch kierunkach: 1) wykorzystania w większym niż dotychczas stopniu drobnoustrojów pożytecznych i 2) energicznego zwalczania drobnoustrojów szkodliwych.

Codzienna praktyka wykazuje, że zebrane z trudem przez rolnika czy ogrodnika produkty żywnościowe podlegają masowemu psuciu się w czasie transportu, przy przetrzymywaniu ich w przetwórniach, magazynach i w sklepach detalicznych. Stąd wynikają olbrzymie straty ilości i jakości artykułów spożywczych. Dzieje się to na skutek zbyt małej ilości odpowiednich magazynów i na skutek tego, że personel nie jest w ogóle poinstruowany o roli drobnoustrojów w przemyśle spożywczym, o warunkach ich działania, o metodach hamowania i niszczenia drobnoustrojów, o zasadach przechowalnictwa itp.

Dla gospodarki narodowej ważna jest ilość i jakość produktów dostarczonych przez rolnika czy ogrodnika, ale o wiele ważniejsza jest ilość i jakość produktów docierających do konsumenta. Tak np. ziemniak jest podstawowym artykułem żywnościowym, a Polska jest jednym z największych producentów ziemniaka w Europie. Niestety na skutek nieopanowania procesów biochemicznych i mikrobiologicznych co 5-ty, a w najlepszym wypadku co 10-ty ziemniak ulega podczas okresu przechowywania gniciu. To samo dzieje się z owocami, warzywami i innymi produktami.

Zadaniem więc mikrobiologii przemysłowej byłaby ścisła współpraca z przemysłem w celu opanowania tego zjawiska, a w związku z tym spopularyzowanie wiadomości o drobnoustrojach i ich zwalczaniu oraz o zasadach przechowalnictwa.

Drugim kierunkiem mikrobiologii przemysłowej jest wykorzystywanie drobnoustrojów pożytecznych przy przerobie produktów rolniczych na nowe artykuły o wyższej jakości, np. ziemniaków na spirytus, owoców na wino, jęczmienia na piwo itp.; przy produkcji mas drobnoustrojów np. w drożdżownictwie i przy produkcji antybiotyków.

Aby w myśl wskazań IX Plenum zwiększyć bazę żywnościową czy paszową, mógłby przemysł fermentacyjny — np. gorzelniczy — produkować spirytus nie z ziemniaka, lecz z innych surowców, zwłaszcza niespożywczych, jak z rolniczych produktów ubocznych i odpadkowych (owoce, jagody, trzcina pospolita, kasztany, żołędzie, pałka wodna, perz, porosty, drewno, torf itp.), z produktów ubocznych przemysłów rolno-spożywczych (cukrowniczego, krochmalniczego, młynarskiego, owocowo-warzywnego, piekarskiego i zielarskiego) i z produktów ubocznych innych przemysłów (celulozowego, włókienniczego i gumowego).

Wydaje się jednak, że ten kierunek produkcji jest prawdopodobnie – poza wykorzystaniem odpadków przemysłu cukrowniczego i celulozowego – nierealny obecnie, ponieważ zbiór i transport wymienionych surowców byłby utrudniony, technika ich przerobu jest dotąd mało bądź zupełnie nierozpracowana, zaś ekonomika tej produkcji niepewna.

Ostatecznie więc należałoby uznać ziemniak za podstawowy i uniwersalny surowiec i dlatego skierować wszystkie nakłady materiałowe i odpowiednie wysiłki osobowe na opanowanie strat podczas jego przechowywania. Koncentryczny wysiłek technologów rolnych, biochemików, mikrobiologów i fitopatologów może dać zasadnicze efekty gospodarcze, natomiast dążenie do zużycia przy produkcji spirytusu różnorodnych odpadków może doprowadzić do rozproszenia nakładów materiałowych oraz wysiłków i tak szczupłych kadr specjalistów.

Inne działy przemysłu fermentacyjnego, np. produkcja gliceryny, alkoholu butylowego i kwasu cytrynowego, od wielu lat nie pokrywają jeszcze

zapotrzebowania rynku. Alkohol butylowy i gliceryna są artykułami poszukiwanymi przez przemysł chemiczny, kosmetyczny itp. Również kwas cytrynowy jest poszukiwany tak przez przemysł spożywczy, jak i przez gospodarstwo domowe, ponieważ w stosunku do płynnego kwasu mlekowego jest jako kwas stały, wygodny w użyciu.

W związku z tym, zadaniem mikrobiologii przemysłowej byłaby taka pomoc w usprawnieniu i organizacji produkcji gliceryny, alkoholu butylowego i kwasu cytrynowego, aby te artykuły pokryły całkowicie zapotrzebowanie krajowe.

Namiastką kwasu cytrynowego w wielu dziedzinach jest kwas mlekowy spożywczy. Jakkolwiek zapotrzebowanie na ten artykuł jest duże i stale wzrastające, to i w tym wypadku produkcja nie pokrywa zapotrzebowania. Surowcem do produkcji kwasu mlekowego spożywczego jest cukier handlowy — sacharoza. W związku z hasłem zwiększenia bazy żywnościowej należałoby produkcję kwasu mlekowego oprzeć na mniej cennym surowcu, a mianowicie na serwatce, która jest odpadkiem przemysłu mleczarskiego.

Technika przerobu serwatki na kwas mlekowy jest znana, a trudności wynikają jedynie ze struktury przemysłu mleczarskiego, albowiem serownie i kazeiniarnie, gdzie serwatka jest odpadkiem, są przeważnie zakładami drobnymi i dlatego nie są przystosowane do uruchomienia takiej dodatkowej produkcji.

Trudności te dałoby się ominąć przy dwustopniowej produkcji kwasu mlekowego. W serowniach więc i kazeiniarniach, gdzie serwatka jest odpadkiem, można by przeprowadzić część biochemiczną produkcji, czyli fermentację mlekową, otrzymując jako produkt tzw. surowy mleczan wapnia o konsystencji twarogu (łatwy do transportu), który byłby z kilku wytwórni przekazywany do centrali, czyli do właściwej fabryki kwasu mlekowego, gdzie podlegałby przeróbce na mleczan farmaceutyczny, na kwas mlekowy spożywczy i techniczny.

Zadanie mikrobiologii przemysłowej na tym odcinku polegałoby na dostarczeniu odpowiednich szczepionek bakterii mlekowych i opracowaniu warunków ich optymalnej działalności.

Innym kwasem organicznym, powszechnie stosowanym w przemyśle spożywczym i w gospodarstwie domowym jest kwas octowy, znany w formie rozcieńczonej jako tzw. ocet.

Produkcja octu z jednostki alkoholu wykazuje dość niską i zmienną wydajność. Ma to miejsce prawdopodobnie na skutek nie stosowania przez przemysł octowy czystych kultur i na skutek braku odpowiednich warunków dla optymalnej działalności bakterii octowych.

Częstym zjawiskiem jest tzw. „nadoksydacja", czyli proces dalszego utleniania kwasu octowego przez bakterie octowe. Proces ten może stać się często prawdziwą plagą octowni.

Według badaczy radzieckich, wbrew poglądom niemieckim, należałoby oprzeć produkcję octu na czystych hodowlach, co gwarantuje wysoką sprawność produkcji. W związku z powyższym mikrobiologia przemysłowa powinna ściśle współpracować z przemysłem octowym i zaopatrywać go w czyste kultury bakterii octowych.

Dalszą nie wykorzystaną rezerwą mikrobiologiczną przemysłu są odpadkowe drożdże piwowarskie, które w postaci gęstwy drożdżowej i drożdży suszonych służą do celów paszowych, a po odpowiedniej przeróbce do celów spożywczych i leczniczych oraz do produkcji ekstraktów witaminowych.

Drożdże piekarskie, pastewne i pokarmowe mogą być jednak produkowane na surowcach odpadkowych i ściekach przemysłowych. Drożdżowaniu podlegać może wywar z ługów posulfitowych (po produkcji spirytusu), wywar z gorzelni melasowych, wywar z produkcji butanolu, wycierka ziemniaczana, woda owocowa (z krochmalni), brzeczka po produkcji drożdży, ługi posulfitowe i hydrolizaty drewna.

Równocześnie dane środowiska na skutek zdrożdżowania ulegają biologicznemu oczyszczeniu, przez co nie obciążają odbiorników.

Nie wykorzystaną rezerwą mikrobiologii przemysłowej są antybiotyki, stosowane przy karmieniu zwierząt nie w formie czystej, lecz jako tanie półprodukty. Wpływ niektórych antybiotyków na podniesienie hodowli jest bardzo znaczny i dlatego pilnym zadaniem mikrobiologii przemysłowej byłoby opracowanie tego zagadnienia tak, aby jak najrychlej można było stosować antybiotyki w żywieniu zwierząt.

W ramach długofalowych zadań mikrobiologii przemysłowej powinny znaleźć się takie zagadnienia, jak produkcja na drodze mikrobiologicznej acetonu, witaminy B_{12} oraz innych witamin, dalej stałe poszukiwanie nowych antybiotyków przez wyodrębnianie i kontrolę nieznanych gatunków drobnoustrojów, wykorzystanie niektórych glonów do szybkiej i wydajnej produkcji materii organicznej itp.

Dalszym zagadnieniem mikrobiologii przemysłowej powinna być charakterystyka mikrobiologiczna takich artykułów masowego spożycia, jak: kapusta kiszona, ogórki kiszone, przeciery pomidorowe itp. oraz opracowanie metod podniesienia jakości i trwałości tych artykułów.

Jednym ze środków podniesienia jakości i wartości wielu artykułów są odpowiednie standardy określające typową mikroflorę produktów normalnych i zepsutych.

Obecnie dla poszczególnych produktów opracowane zostały normy chemiczne, natomiast norm mikrobiologicznych brak zupełnie, albo są one bardzo ogólnikowe.

W celu podniesienia jakości wymienionych produktów powinna nastąpić pod tym względem zasadnicza zmiana.

Zmiana powinna nastąpić również w kształceniu nowych kadr mikrobiologów dla przemysłu żywnościowego i fermentacyjnego. Dotychczasowi absolwenci uczelni zawodowych mają dostateczne przygotowanie chemiczne, natomiast wykazują bardzo słabe przygotowanie z dziedziny mikrobiologii. Ta dysproporcja powinna być wyrównana w nowych programach szkoleniowych, ponieważ zasadniczą rolę w przemyśle artykułów konsumpcyjnych odgrywają właśnie drobnoustroje.

W celu wykonania bieżących i przyszłych zadań potrzebna jest więc mikrobiologii rolniczej i przemysłowej liczna i wysoko wykwalifikowana kadra mikrobiologów.

Wł. Kunicki-Goldfinger, K. Dygdała, B. Tuszyńska und *H. Doleżko*

BODENDIPHTHEROIDE. TEIL III. PHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN UND SYSTEMATIK *).

Aus dem Institut für Allgemeine Mikrobiologie der MCS-Universität zu Lublin.
Eingegangen am 20.IX.1953.

EINLEITUNG

Die Bodendiphtheroidengruppe bildet in physiologischer Hinsicht eine sehr uneinheitliche Gruppe. Trotzdem hat man sich bemüht, ihre physiologische Eigenschaften nicht nur zur Hervorhebung dieser Gruppe als ein Ganzes auszunutzen, sondern man hat versucht auf diesen Eigenschaften eine Klassifikation innerhalb dieser Gruppe zu stützen.

Das Ziel unserer Arbeit war eine Untersuchung der Brauchbarkeit mancher physiologischen Eigenschaften für die Charakteristik der Bodendiphtheroidengruppe oder ihrer verschiedenen Arten und Gattungen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN:

Untersuchungsmaterial:

Die Untersuchungen wurden auf 35 Bodendiphtheroidenstämmen durchgeführt, die in morphologischer Hinsicht in der vorhergehenden Arbeit von Kunicki-Goldfinger, Kowalska u. Sabbo (1953) charakterisiert worden und sowie auf 15 Stämmen, die später isoliert wurden [1].

*) Praca została wykonana w oparciu o dotację Sekcji Naukowej Komisji Popierania Twórczości Naukowej i Artystycznej przy Prezydium Rady Ministrów oraz częściowo — Działu Mikrobiologii I. U. N. G.

[1]) Die Stämme No 4 u. 10 — *C equi*. Gruppe I D (No: 6D, 8D, 11D, 12D, 21D, 33D, 34D, 35D u. 38D) mit kleinen (0,5—1,5 mm), milchweissen, regulären, glatten Kolonien auf Agar, die ein Häutchen und körnigen Bodensatz im Bouillon bilden, mit pleomorphischen Zellen (0,5—0,7 × 2—4 μ), die langsam in Kokken übergehen. Ähnlich den vorherigen, zeichneten sich die Stämme der Gruppe IID (No 25D) und der Gruppe IIID (19D u. 22D) durch schwache Beweglichkeit aus. Die Gruppe IVD (No 27D) mit beweglichen Zellen gab eine schwache Trübung im Bouillon und auf festen Nährböden — kleine, gelbliche Kolonien, die von einer flachen Zone strahlförmig sich ausbreitenden Wuchses umringt war.

Bis zum Beginn der Untersuchungen sind die Stämme im Kühlschrank (4°) auf schrägen Nähragar (oder auf Agar mit Hefeextrakt) aufbewahrt worden. Man hat sie jeden Monat durchgeimpft.

UNTERSUCHUNGSMETHODEN

Die Ausnutzung verschiedener Verbindungen als Stickstoffquellen wurden auf Conn'schen Glukosenährböden mit Zusatz von einer entsprechenden Stickstoffsubstanz (Ammoniaksalze, Nitraten, Pepton) untersucht. Dieselben Nährböden mit Ammoniaksalzen und verschiedenen Kohlenstoffverbindungen wurden bei der Bezeichnung von assimilierbaren Kohlenstoffquellen angewandt.

Die Fermentationsfähigkeit von Glukose, Saccharose, Laktose, beobachtete man während 60-tätiger Bebrütung auf Peptonwasser (0,5% Pepton Witte, 0,5% Zucker, mit Bromthymolblau als pH Indikator und mit Gärröhrchen); amylolytische Fähigkeiten — auf Peptonwasser mit 0,5% löslicher Stärke. Die Ergebnisse überprüfte man nach 1, 2, 3 und 4 Wochen.

Überdies beobachtete man das Wachstum auf Lakmusmilch, die Fähigkeit zur Katalasebildung auf festen Connschem Nährboden und Gelatinaseproduktion (die Zusammensetzung des Gelatinenährbodens wurde in I Teil angegeben), die Fähigkeit der Nitratenreduktion (Nährstoff: KNO_3 1 g, Pepton 5 g, Fleischextrakt 1000 ml, pH 7,2; das Bestimmen der Nitritenanwesenheit mit Hilfe von Sulfanilsäure und α-Naphthalamin, der Nitraten im Falle einer Nitritenabwesenheit mit Hilfe von Diphenylamin).

Alle Kulturen wurden in Zimmertemperatur angelegt. Beobachtungen wurden in zwei paralellen Wiederholungen durchgeführt.

Die Zersetzung der Kohlenwasserstoffe beobachtete man auf flüssigem und festem Nährboden von Söhngen (1913) mit Zugabe von 0,5% flüssigem Paraffinöl oder Petroleum, beziehungsweise auf demselben Nährboden, in welcher gesättigter Dampf von Benzin, Petroleum oder Leuchtgas die Kohlenstoffquelle bildete.

Die Ausnutzung von Phenol, Xylol, Resorzin und Orzin bezeichnete man auf flüssigem und festem Söhngenschen Nährboden mit Zugabe verschiedener Konzentrationen der untersuchten Verbindungen. Den Verbrauch dieser Verbindungen durch die sehr üppig an ihnen wachsenden Stämme bezeichnete man schätzungsweise in flüssigen Nährböden nach dem folgenden Schema:

In 100 ml-Erlenmeyerkolben wurden je 50 ml flüssigen Söhngenschen Nährboden ausgegossen, in Autoklave sterilisiert und steril 0,25% Phenol, 0,035% Orzin, 0,25% Resorzin oder 0,06% Xylol beigegeben. Man impfte den Nährböden mit Hilfe einer Standardöse (⌀ 2 mm) mit zweiwöchige Kulturen der untersuchten Stämme in Söhngenschem Nährboden mit den entsprechenden Kohlenwasserstoffderivaten.

Die Kultur wurde zwei Wochen lang in Temperatur von 20° bebrütet. Nach Ablauf dieser Zeit wurde schätzungsweise der Kohlenwasserstoffverbrauch bemessen.

Phenolbestimmung:

Die Kultur wurde zentrifugiert (4000 Drehungen / Min. während 15 Min.), 30 ml entnommen, 30 ml 10 N KOH beigegeben, die Kultur im Bad bis auf 1/10 des anfänglichen Umfanges ausgedünstet, 3 ml konzentrierten H_2SO_4 und 9 ml destillierten Wassers

beigegeben. Die Flüssigkeit wurde abdestilliert, zum Destillat fügte man 2 Tropfen Millonschen Reagens und 1 Tropfen konzentrierten HNO_3 bei.

Gleichzeitig wurde dieselbe Probe mit ungeimpften Söhngenschen Nährboden durchgeführt (den man 2 Wochen lang mit Zusatz von 0,25, 0,125 und 0,06% Phenol in Temperatur von 28° gehalten hat). Die von Phenolanwesenheit zeugende Rosafärbung trat im Nährboden mit Zugabe von 0,25 und 0,125% Phenol auf.

Orzinbestimmung:

Die Kultur wurde zentrifugiert, 30 ml wurde mit 30 ml konzentrierter Salzsäure gemischt und 5 Tropfen 1-prozentigen $FeCl_3$ beigefügt. 5 ml Mischung wurde 1 ml 0,02-prozentigen Arabinose beigefügt und im Wasserbad (80°) 30 Minuten lang gewärmt. Diese Probe wurde auch am ungeimpften Söhngenschen Nährboden mit Zusatz von 0,035, 0,007 und 0,0035% Orzins durchgeführt.

Rezorzinbestimmung:

Die Kultur wurde zentrifugiert. Zur Bestimmung gebrauchte man unverdünnte, sowie fünf-, zehn-, und fünfzigfach verdünnte Kulturflüssigkeiten. In 44 ml jeder Probe wurden 6 ml konzentrierten HCl hinzugefügt (zum Erhalten der Endkonzentration 12% HCl). 5 ml der Flüssigkeit mengte man mit 1 ml 0,02% Fruktose, die mit Salzsäure gesäuert war und erhitzte im Wasserbad (80°) 30 Min. lang. Die Reaktion wurde auch mit ungeimpften Nährboden, der 0,25, 0,05, 0,025 und 0,005% Resorzin enthielt, durchgeführt. Gelbe Färbung, die Anwesenheit von Resorzin bezeugte, trat bei Konzentration von 0,25, 0,05 und 0,025% Resorzin auf.

Die Assimilierbarkeit der Humusstoffen als N- und C-Quellen untersucht man auf Connschen Mineralnährboden mit Zusatz von 0,5% Mumusstoffen [2]).

Serologische Untersuchungen wurden mit Hilfe von Agglutinations- und Präzipitationsreaktion durchgeführt.

Kaninchen wurden mit lebender Bakteriensuspension aus 24-stündigen Schrägagarkulturen nach folgendem Schema immunisiert:

Tag	Suspensionsdichtigkeit	Dosis
1	$1 \cdot 10^7$	1 ml
2	$2 \cdot 10^7$	1 ml
3	$4 \cdot 10^7$	1 ml
4 — 6	Pause	
7	$8 \cdot 10^7$	1 ml
8	$16 \cdot 10^7$	1 ml
9	$32 \cdot 10^7$	1 ml
10 — 17	Pause	1 ml
18	$64 \cdot 10^7$	1 ml
19 — 24	Pause	
25	Blutentnehmung	

[2]) Humosstoffen lieferte Mgr J. Trojanowski aus dem Institut für Pflanzenphysiologie der Biologischen Fakultät der MCS Universität wofür Ihm die Autoren herzlichen Dank zollen.

Die Verdünnung der Bakteriensuspesion wurde nach der Mc Ferlandskala bezeichnet, sodass die Ziffern nicht die eigentliche Zahl der Bakterienzellen angeben, sondern, die Menge der Zellen *Escherichia coli,* die eine identische Opaleszenz geben.

In Hinsicht auf die, in einer physiologischen Kochsalzlösung vorkommende Spontanagglutination der untersuchten Stämme, verfertigte man die Bakteriensuspension für die Agglutinationsreaktion in dem Bufor-Bouillon (pH 7,2) und dieselbe Bouillon benutzte man zur Serumverdünnung.

Die Proben standen zwei Stunden lang in Wasserbad (56°) und 18 Stunden lang in Zimmertemperatur. Danach wurde die Agglutinationsreaktion abgelesen.

Antigen für Prezipitationsreaktion wurde durch Abschwemmen 30 24-stündiger Schrägagarkulturen erhalten. Die Bakteriensuspension wurde durch vierfache Zentrifugierung in physiologischer Kochsalzlösung von aller Verunreinigungen befreit und das Sediment mit 20 ml 0,5 N HCl vermischt.

Die Suspension wurde 15 Min. lang im 100° erhitzt, schnell gekühlt und mit 0,5 N NaOH neutralisiert. Die Reaktion wurde potentiometrisch kontrolliert. Der Bodensatz wurde abzentrifugiert (4500 Drehungen/min. durch 30 Min.) aus der abgesonderten Flüssigkeit wurde Polysaccharid (Hapten) durch Zusatz eines 3-fachen Umfanges von 96% Alkohol prezipitiert.

Die Proben liess man in 0° drei Tagelang stehen; sie wurden zentrifugiert, der Alkohol durch Ausdünstung beseitigt, der Bodensatz in Vacuum in Zimmertemperatur getrocknet, gewogen und in soviel physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, dass im je 1 ml. 1 mg Polysaccharid anwesend war.

Die Proben wurden auf 2 Stunden in 37° aufgestellt und danach wurde Präzipitationsreaktion abgelesen.

UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Alle untersuchten Stämme verbrauchten Glukose, Laktose, Saccharose und Glyzerol als Kohlenstoffquelle; ale Stickstoffquelle — Ammoniaksalze, Nitrate und Pepton. Humus wurde gleichzeitig als Kohlen- und Stickstoffquelle durch alle in dieser Beziehung untersuchten Stämme (Gruppe K und S) ausgenutzt. Alle Stämme produzierten Katalase. Manche physiologische Eigenschaften sind in Tafel I dargestellt worden.

Bei Diphtheroiden ist die Fermentationsfähigkeit schwach betont. Auf 50 geprüfte Stämme wurde nur bei 5 Stämme aus Gruppe IS und bei einem Stamme aus Gruppe IXS in den Glukosenährböden nach 12—18 Tagen der Bebrütung Säurebildung beobachtet. Einige Stämme (8 aus Gruppen IS, IIIS,VIS und IXS) bildeten Säure ohne Gasentwicklung auf Saccharosenährböden nach 4—12 Tagen. Die übrigen Stämme veränderten die Glukosenährböden nicht (22, also 44%), oder alkalisierten sie (22 Stämme, also 44%), wahrscheinlich infolge von Ammonifikation.

Proteolytische Eigenschaften sind schwach ausgedrückt. Nur 9 Stämme (18%) aus den Gruppen IS, IIIS, IXS und IVD verflüssigten Gelatine und das erst nach 2 — 3 Wochen.

Tafel I

Manche physiologische Eigenschaften der Bodendiphtheroide

Niektóre własności fizjologiczne dyfteroidów glebowych

Некоторые физиологические свойства почвенных дифтероидов.

Gruppe	Stamm	Glukose	Saccharose	Laktose	Nitratenreduktion	Lakmusmilch	Starke	Gelatine
VIIS	17a	—	—	·	—	12al	—	—
	23	30al	4al	·	—	6P	—	—
IS	18b	18K	4K	K	—	6R	—	15+
	20a	12K	7K	K	—	9R	—	13+
	24a	12K	4K	K	—	5P	—	12+
	25b	12K	4K	K	—	9R	—	12+
	26b	12K	4K	K	—	9R	—	12+
VS	17d	—	12K	—	—	9R	—	12+
VIS	20c	30al	4K	al	—	6R 12P	—	—
VIIS	26a	30al	—	—	—	—	—	—
IXS	22	—	—	—	—	9R	—	21+
	17b	—	—	—	+	3P	+	21+
	11b	2K	IK	K	—	—	—	—
IIIS	18a	12al	4al	al	—	1al	—	—
IIK	17,18,28	—	—	—	—	2R	—	—
	27	—	17al	—	—	2R	—	—
IIIK	22	15al	9al	al	—	2R	+	—
IVK	10,20	—	—	—	—	2R	—	—
	12,13	—	—	—	+	2R	—	—
	14	8al	—	—	+	2R	—	—
	16	8al	—	—	—	2R	—	—
	19	8al	9al	al	—	2R	—	—
VK	11	—	—	—	+	2R	—	—
	15,21,23.24,25,26	—	—	—	—	2R	—	—
	29	8al	—	—	—	2R	—	—
	30	8al	—	—	—	2R	—	—
C.equi	4,10	—	al	al	+	17R 20al	—	—
ID	6,8,11,12,21,35,38	al	al	al	+ 21	24al	—	—
	33	al	al	al	+ 20	12P	—	—
IID	25	al	al	al	+	al	—	42+
IIID	19,22	al	al	al	+	4al	+	—
IVD	27	—	al	al	+	6al 28R	—	+

Erläuterungen: Objaśnienia:

— Fehlen der Veränderungen — brak zmian

al — Alkalisation — alkalizacja

K — Säuerbildung — zakwaszenie

R — Lakmusreduktion — redukcja lakmusu

P — Kaseinpeptonisation — peptonizacja

+ — Nitratenreduktion, Gelatineverflüssigung, Stärkeauflösung — redukcja azotanów, rozpuszczenie żelatyny, rozpuszczenie skrobi

ine Ziffer bedeutet, nach wieviel Tagen der Bebrütung eine Veränderung bemerkt wurde. Wenn beim Zeichen die Ziffer fehlt, bedeutet es, dass die Veränderung nach 72-stündiger Bebrütung bemerkt wurde.

Tafel III

Diphtheroidenwachstum auf Nährböden nach Söhngen mit Zusatz von Kohlenwasserstoffen als einziger Kohlenstoffquelle

Wzrost dyfteroidów na podłożach z dodatkiem węglowodorów jako jedynego źródła węgla

Рост дифтероидов на субстратах с добавлением углеводородов в качестве единственного источника углерода

Gruppe	Nr des Stammes	Fester Nährboden nach Söhngen		Flüssiger Söhngenschen Nährboden
		Petroleum	Leuchtgasatmosphäre	Petroleumatmosphäre
C.equi	4,10D	Kleine, reguläre, weissliche, dann hellorangefarbene, durchsichtige, opalisterende Kolonien	Schwaches Wachstum, die Kolonien zusammen fliessende	Orangefarbener Bodensatz.
IID	25D	Schleimartige, hervortretende, am Nährboden haftende Kolonien	Ziemlich starkes Wachstum, Kolonien zusammenfliessende, opaliesierende.	Schwache Trübung, blauer Ring, weisser Bodensatz
ID	6,8,1,12,21, 33,35,38D	Sehr kleine, hervortretende, reguläre Kolonien, Opaleszenz (blau-grüne)	Ziemlich starkes Wachstum, Kolonien zusammenfliessende.	Graues, körniges Häutchen, weisslicher Bodensatz
IIID	19,22D	Winzige, hervortretende, reguläre, am Nährboden haftende Kolonien; Opaleszenz	Hauchförmiges Wachstum	grau-blauer Ring, weisslicher Bodensatz
IVD	27D	Kompakte, hervortretende, und zähige Kolonien, glänzende.	Ziemlich starkes zusammenfliessendes Wachstum	gelber Bodensatz
VS	17dS	Nach 5 Tagen: winzige, schleimige, reguläre, leicht gelb-farbene Kolonien mit Opaleszenz	—	—
IIIS	18aS	Milchweisse, schleimige, wässerige, unreguläre Kolonien	—	—
IS	20S,29,b 20aS	Sehr schwaches Wachstum; nur ein paar gelbe hervortretende Kolonien auf der Platte	—	—
VIIIS	17aS	Winzige, schleimige, glatte, reguläre, durchsichtigweisse, opalisierende Kolonien.	—	—
IVS	27S	Kein Wachstum	—	—
IIIK	22K	Sehr starkes Wachstum; kleine, milch-weisse, schleimige, unreguläre Kolonien	—	—
IVK	40K	Kleine, schleimige, zerflossene, blaue, opalisierende Kolonien	—	—
VK	29,30,24, 26K	Schwaches Wachstum; kleine, einzelne, schleimige, opalisierende Kolonien	—	—
VK	11.23K	Kein Wachstum (10 Tage)	—	—

Aus der Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse, die Kurze Zeit nach der Isolierung der Stämme aus dem Boden gemacht wurden und in der vorhergehenden Arbeit (Kunicki-Goldfinger, Kowalska u. Sabbo, 1953) besprochen worden sind, mit den hier dargestellten, welche 10 Monate später durchgeführt wurden, geht hervor, dass bei der Aufbewahrung der Stämme die Verflüssigungsfähigkeit der Gelatine abhanden geht. Ausdrücklich illustriert dies die folgende Zusammenstellung:

Tafel II

Verhalten der Bodendiphtheroide auf Gelatinenährböden.

Zachowanie się dyfteroidów glebowych na podłożach z żelatyną.

Поведение почвенных дифтероидов на субстратах с желатином.

Gruppe	Stämme	Verflüssigung der Gelatine	
		Kurz nach der Isolierung	ein Jahr später
IS	18b, 20a, 24a, 25b, 26b	nach 1 Tag	nach 12-15 Tagen
IIIS	17d	nach 3 Tagen	nach 12 Tagen
VIS	20c	nach 7 Tagen	(fehlt)
VIIS	26a	nach 7 Tagen	(fehlt)

Lakmusmilch wurde durch die meisten Stämme reduziert. Nur wenige (5 Stämme = 10%) lösten Kasein auf, wobei man keine Korrelation zwischen einer Fähigkeit zur Kaseinolyse und Verflüssigung von Gelatine bemerkt.

Stärke wurde nur ausnahmsweise (bei 6% der Stämme) zerlegt. Ähnlich reduzieren nur wenige Stämme Nitraten (20%).

Die Fähigkeit zur Säuerbildung in den Zuckernährböden ist deutlich mit der Gelatinaseproduktion korreliert.

Allgemein auffallend ist die grosse Annäherung der auf Morphologie- und Wachstumseigenschaften ruhenden Klassifikation und einer Klassifikation der Stämme, die man bei der Berücksichtigung ihrer physiologischen Merkmale durchführen könnte. Die vorhin erwähnten morphologischen Gruppen sind in physiologischer Hinsicht grundsätzlich einheitlich. Eine Ausnahme bildet hier die Gruppe IXS, die aber auch in morphologischer Beziehung uneinheitlich war.

Fast alle in dieser Richtung untersuchten Stämme (26 = 90%) wachsen auf Söhngenschen Nährboden in Petroleum- und Leuchtgas-Atmosphäre. Der Wachstumstypus auf diesem Nährboden ist in Tafel III dargestellt worden.

Was die Ausnutzung der aliphatischen Kohlenwasserstoffe (Paraffinöl) sowie der aromatischen Kohlenwasserstoffderivate betrifft, siehe Tafel IV.

90% der Stämme verbraucht als Kohlenstoffquelle Paraffinöl, 31% de Stämme — Xylol, 21% der Stämme — Phenol und α-Naphthol. Im Allgemeinen können Stämme, die Phenol ausnützen, auch von Xylol Gebrauch machen.

Tafel IV

Diphtheroidenwachstum auf einem festen Söhngenschen Kohlenwasserstoffnährboden.

Wzrost dyfteroidów na stałym podłożu Söhngena z dodatkiem węglowodorów.

Рост дифтероидов на плотной среде Зенгена с добавлением углеводородов.

Gruppe	Nr des Stammes	Xylol	Phenol	α-Naphthol	Paraffinöl
IS	20a, 10bS	+	—	—	+
IIIS	18aS	—	—	—	+
IVS	27s	—	—	—	—
VS	17dS	—	—	+	+
VIIIS	17aS	—	—	—	+
IS	20cS	+	—	—	+
IID	4,10D	—	—	—	+
	25D	—	—	—	+
ID	6D, 8D	—	—	+	+
	11, 12D	—	—	—	+
	21D	+	—	—	+
	33D	+	+	+	+
	35,38D	—	+	—	+
IIID	19D	—	—	—	+
	22D	+	+	+	+
IIIK	22K	+	—	—	+
IVK	10K	+	+	—	+
VK	29K	+	+	+	+
	30K	+	+	—	+
	24,25,26K	—	—	—	+
	11,23K	—	—	+	—

Die beim Zersetzen der Kohlenwasserstoffe hoch aktiven Stämme 29K und 33D wurden einer nähren Untersuchung unterzogen. Es stellte sich heraus, dass sie nicht nur fähig sind Phenol, Xylol und α-Naphthol, sondern auch Hydrochinon, Resorzin und Orzin zu zerlegen. Wachstum, wie aus Tafel V hervorgeht, ist im weiten Umfang bei verschiedenen Konzentrationen dieser Verbindungen möglich.

Bei genaueren Untersuchungen (deren Methodik obenstehend beschrieben wurde, Seite 94—95) wurde nach 2 Wochen Züchtung auf flüssigen Söhngenschen Nährboden mit Zusatz der untersuchten Substanz eine

Abnahme des Phenols (von 0,25% auf weniger als 0,125%) und Orzins (von 0,035% auf weniger als 0,007%) festgestellt.

Die angewandte Methode lässt eine Feststellung des Abnehmens von Resorzininhalt im Nährboden nicht zu.

Der Nährboden mit Phenol und Orzin unterlag während der Kulturdauer einer ständiger Säuerung (pH fiel von 7,1 — 7,2 auf 6,6 — 6,8). Ähnliches beobachtete man auf Resorzin und Xylol.

In serologischen Untersuchungen hat man sich als Ziel gesetzt festzustellen, ob morphologisch-physiologische Gruppen auch in Bezug auf ihren antigenischen Bau einheitlich sind.

Man wählte dazu die Gruppen IS und VK, die eine grössere Zahl der Stämme hatten und bereitete Anti- 23K und Anti-25bS — Immunseren vor.

Die Ergebnisse der Agglutinationsprobe zeigt Tafel VI. Die Resultate der Präzipitationsreaktion waren identisch. Titer in Präzipitationsreaktion mit homologischen Stamm war 1 : 80 (bei Haptenverdünnung also 1 : 80000).

Die bei Serumadsorbtion durchgeführte Agglutinationsreaktion [3]) weist auf, dass alle mit dem gegebenen Immunserum agglutinierten Stämme alle Agglutininen adsorbieren.

Die Ergebnisse weisen darauf, dass die erwähnten morphologischen Gruppen in Bezug auf ihre Antigenstruktur nich einheitlich sind. Nur 25% der Stämme aus Gruppe VK, sowie 40% aus Gruppe IS enthielten gemeinsamen Gruppenantigen.

Da es uns einzig um eine Orientierung in der Brauchbarkeit der serologischen Methode für die Einteilung der Diphtheroide in Gruppen geht, haben wir damals diese Untersuchungen nicht weitergeführt und die Kreuzagglutination nicht hergestellt.

Trotzdem ist es sichtbar, dass man in Anlehnung an die Antigenanalyse innerhalb jeder dieser Gruppen mehrere Typen hervorheben könnte. Solch eine Feinheit in der Klassifikation der Bodendiphtheroide wäre völlig zwecklos, um so mehr, als die biologische Bedeutung nicht nur der einzelnen Stämme, sondern auch der ganzen Diphtheroidengruppe ziemlich unklar ist.

Sichtbar ist auch, dass man unter vielen Stämmen aus anderen morphologisch- physiologischen Gruppen auf keinen traf, der irgendwelche antigenische Verwandschaft mit den Stämmen aus den Gruppen IS und VK, die in Tafel VI zu sehen sind, angetroffen hätte.

Mit einiger Wahrscheinlichkeit könnte man auf Grund dieser Tatsache annehmen, dass bestimmte Antigentypen gänzlich oder fast ganz in bestimmten morphologisch-psysiologischen Gruppen Platz finden.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Das Problem der systematischen Zugehörigkeit und Klassifikation der Diphtheroide ist eng mit der Beurteilung ihrer physiologischen Eigenschaften verbunden.

Zahlreiche Proben einer Systematisierung des Materials fussen vor allem auf physiologischen Merkmalen.

---

[3]) Verdünntes Serum in Verhältniss von 1 : 10 vermischte man mit der Hälfte des Umfanges der Bakterienmasse und adsorbierte in Temperatur von 50° 2½ Stunden lang, später in Temperatur von 20° — 18 Stunden lang.

Tafel V

Wachstum der Stämme 29K und 33D auf flüssigem Söhngenschen Nährboden mit aromatischen Kohlenwasserstoffederivaten

Wzrost szczepów 29K i 33D na płynnej pożywce Söhngena z węglowodorami aromatycznymi

Рост штамма 29 К и 33 D на жидкой среде Зенгена с добавлением ароматических углеводородов

Nr des Stammes	Konzentration in % %																																	
	Hydrochinon						Resorzin						Xylol						Phenol						Orzin											
	0,14	0,07	0,035	0,0175	0,0087	0,0043	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015				
29K	++	++	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	++	++	+	+	+	+	+	+	+	++	++	—	++	++	++	++	+	+				
33D	++	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	++	++	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	+	+				

— Kein Wachstum. Brak wzrostu

\+ Schwaches Wachstum (leichte Opaleszenz) słaby wzrost (lekka opalscencja)

++ Starkes Wachstum (grosse Opaleszenz) silny wzrost

Tafel VI

Agglutinationsreaktion mit Anti-25bS und Anti-23K Seren; Agglutinationstiter

Odczyn aglutynacji z surowicami anty-25bS i 23-K — miano aglutynacji

Реакция агглютинации с сыворотками анти-25bS и анти-23K; титр агглютинации

Gruppen	VK			IVK	IIIK	IS					VIIIS	VIS	VS	IVS	IIIS	IXS
Stämme	23K	25K	15,21 24,26, 29,30, 11	10,16, 19,20, 12,13, 14	22	25b	18b	18c	19b	20a,24c 25c,25d 26b,26c	17a 23	20c	17d	27	18a	11b,22 17b
Anti 25bS-Serum	—	—	—	—	—	800	400	200	400	—	—	—	—	—	—	—
Anti 23K-Serum	6400	6400	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

So behaupten Conn u. Dimmick (1947, 1948), dass Bodendiphtheroide, deren wichtigster Vertreter (ihrer Meinung nach) die Gattung *Arthrobacter* ist, sich durch sehr geringe Nährstoffforderungen auszeichnen und auf Mineralnährböden mit Kohlehydraten als Kohlenstoffquelle wachsen.

Spätere, genauere Untersuchungen von Lochhead u. Mitarbeitern (Lochhead 1952, Lochhead u. Thexton 1951, 1952, Lochhead u. Burton 1953) haben bewiesen, dass einige Prozente der aus dem Boden isolierten Diphtheroidenstämme für ihr Wachstum Vitamin B_{12} oder andere, noch nicht untersuchte Wachstumsfaktoren verlangt, die im Bodenextrakt enthalten sind oder durch manche Bakterien (zB. *Arthrobacter pascens)* produziert werden.

18% der untersuchten Stämmen (Gruppen IXS und IK) verlangten zur Erhaltung und Förderung des Wachstums die Zugabe eines Hefe- oder Bodenextraktes. Da der Boden, wie aus den Untersuchungen von Roulet (1948) und Schmidt (1951) hervorgeht, ähnlich wie Hefe, viele Arten von Wachstumsfaktoren (Riboflavin, Thiamin, Nicotinsäureamid, Pyridoxin, Pyridoxal, Pantothensäure, Biotin, Folsäure, P. A. B. A., B_{12}, Inosit. u. a.) enthält, ist es schwer, ohne nähere Untersuchungen die Art des von den untersuchten Stämmen verlangten Faktor zu bestimmen.

Die Tatsache, dass der Prozentsatz der vitamineverlangenden Stämme annähernd der von Lochhead angegebenen Ziffer ist, lenkt ihre Aufmerksamkeit auf sich.

Es ist hervorzuheben, dass Conn u. Dimmick eine Wachstumeinstellung von 13 *Arthrobacter*stämmen auf Mineralnährböden beobachteten.

Im Lichte der obigen Tatsachen ist die, durch Conn (1928a, b, 1948) zur Charakteristik dieser Mikrobengruppe angegeben „Fähigkeit zum Wachsen auf Mineralnährboden" als differenzierendes Merkmal, als eine zu weitgehende Vereinfachung zubetrachten.

Mit Conn übereinstimmend, hebt sich die Bodendiphtheroidengruppe durch die Fähigkeit hervor, Ammoniaksalze und Nitraten als Stickstoffquelle auszunutzen. Wesentlich verhielten sich alle unsere Stämme ähnlich. Doch auch in dieser Beziehung sind Bodendiphtheroide nicht homogen. Die Gruppen 1 u. 2a (Topping 1937) entnahmen Stickstoff nur aus Pepton oder Hefeextrakt. Lochhead u. Chase, 1943, (nach Magnus 1947) fanden Diphtheroide, die zum Wachstum Anwesenheit von Aminosäuren verlangten.

Man sollte die Eigenschaften, die bei vielen Mikroorganismen auftreten und die bei Diphtheroiden nicht immer beobachtet werden, nicht als spezifische Eigenschaft dieser Gruppe auffassen.

Eine interessantere Eigenschaft der Diphtheroide scheint die Fähigkeit zum Verbrauch der Heterozyklischen Verbindungen als Kohlen- und Stickstoffquelle zu sein.

Die von uns untersuchten Stämme schöpften Stick- und Kohlenstoff aus Humusverbindungen. Nach Küster (1950) können Huminsäuren eine Kohlen und Stickstoffquelle für *Proactinomyces* und Mykobakterien bilden. Jensen (1952), Lara (1952), Müller (1950), Plotho (1948), Horvath (1943) und Moore (1949) behaupten, dass Purine und

Pyridine für Bodendiphtheroide und verwandte *Nocardia (Proactinomyces)* eine gute Kohlen- und Stickstoffquele sind.

Wir nehmen an dass die Fähigkeit zum Verbrauch der heterozyklischen, Stickstoff enthaltenden Verbindungen ein Charakteristikum der Diphtheroide und der ihnen verwandten Gruppen der Mykobakterien und Proactinomyceten, sowie einiger von Diphtheroiden leicht auf Grund anderer Eigenschaften zu unterscheidenden Bakterien *(Pseudomonas, Achromobacter)*, ist.

Das Verhalten der Bakterien auf Nährböden mit Kohlehydraten kann man schwer, übrigens im Einvernehmen mit Jensen (1952) und Phillips (1953), als Grundlage zur Bestimmung der Gruppe anerkennen.

Energetische Prozesse haben bei Bodendiphtheroiden öfter den Charakter von oxydativen Atmungsvorgängen, doch ein ziemlicher Prozentsatz der Stämme (in unseren Untersuchungen — 16%) weist eine Atmung fermentativer Art auf.

Die Fähigkeit zur Oxydation der organischen Säuren, welche manche Forscher zur Klassifikation auszunutzen versuchten, ist bei *Proactinomyces* und Bodendiphtheroiden ein sehr unbeständiges Merkmal und kommt nur bei einem Teil der Stämme (Müller 1950) vor.

Oxydation von Azeton und Brenztraubensäure-oxime die von Levine und Krampitz 1952 (Azeton) und Jensen 1951, Quastel et al. 1952 (oxime) als ausschliesslich für Bodendiphtheroide charakteristisch anerkannt wurde, müsste man auf grösserem Material beweisen.

Die Ausnutzung der Kohlenwasserstoffe als Kohlenstoff- und Energiequelle ist dagegen bei Bodendiphtheroiden ziemlich allgemein. 90% der Stämme oxydierten alipatische Kohlenwasserstoffe.

In diesen Untersuchungen wurde festgestellt, dass 20 — 30% der Diphtheroide Phenol und Xylol zerlegen, wobei die von ihnen geduldete Konzentration manchmal verhältnissmässig hoch ist (0,125% Phenol, Xylol, Resorzin, 0,03% Hydrochinon). Die Konzentrationen sind also viel höher, als die vorher beobachteten.

So gibt zB. Tausson (1950) als Höchstgrenze der Konzentration für die von sich untersuchten Bakterien an: Phenol — 0,05 — 0,1%, Hydrochinon — 0,025%; Wagner (1914), Osnicka (1946)—Phenol 0,06%; Gray und Thornton (1928) — Phenol 0,15%.

Die Zerlegung der aliphatischen und seltener noch der aromatischen Kohlenwasserstoffe durch Diphtheroide, *Mycobacterium, Proactinomyces* — wurde auch von Söhngen (1913), Gray und Thornton (1928), Bushnell u. Haas (1941), Turtiff (1934), Evans (1947), Tausson (1950), Nieczejawa (1949), den Dooren de Jong (1927), Müller u. Schwartz (1950), Gale (1952), Obojska (1953), Müller (1950), Zo Bell (1946) u. anderen beschrieben.

Ausser den obengenannten, untereinander verwandten Gruppen der Mikroorganismen, findet man die Oxydationsfähigkeit der Kohlenwasserstoffe sehr oft innerhalb der Gruppe *Pseudomonas* und *Achromobacter*, besonders bei verhältnismässig anaerobischen Bedingungen (Skarżyński u. Czekałowski 1946, Söhngen 1906, Tausz u. Peter 1919, Gray u. Thornton 1928, Bushnell u. Haas 1941, Zo Bell 1946, Stone, Fenske u. White, 1942, Szturm 1950, Robotnowa et al. 1950).

Eine bibliographische Übersicht zum Problem der Zerlegung der Kohlenwasserstoffe durch Mikroorganismen bietet Osnicka (1946).

Jedenfalls stellen die Diphtheroide einen umfangreichen Prozentsatz der Kohlenwasserstoff-zerlegenden Bodenstämme dar.

Auf 43 von uns isolierten Stämme, die Paraffin oxydieren, waren 26 (60%) Diphtheroide, 11 (25%) *Pseudomonas,* und 4 (10%) *Achromobacter.*

In Zo Bells Untersuchungen (1946) stellten *Corynebacterium, Mycobacterium* u. *Proactinomyces* insgesamt 31,5%, *Streptomyces* 17,5%, andere Bakterien 51% der Kohlenwasserstoff-oxydierenden Stämme dar.

Mit Conn und Dimmick, sowie mit Lochhead übereinstimmend sollten sich Bodendiphtheroide durch Verflüssigungsfähigkeit von Gelatine und Nitratenreduktion auszeichnen.

Wie aus unseren Untersuchungen hervogeht, ist die Gelatineverflüssigung ein veränderliches Merkmal, das gänzlich schwinden kann und nur einem kleinen Teil der Stämme eigen ist.

Übrigens haben die Resultate von Topping (1937), Jensen (1940) und Phillips (1953) den diagnostischen Wert dieser Eigenheit bezweifelt.

Dasselbe betrifft die Nitratenreduktion.

Die, für die Mehrzahl der Diphtheroide charakteristische Unbeweglichkeit, sollte nicht, unser Meinung nach, als grundsätzliches Merkmal anerkannt werden.

Unter den, von uns untersuchten Stämmen besassen nur 4 eine Bewegungsfähigkeit.

Bewegliche Diphtheroide haben auch Kluyver (nach Jensen 1952), Topping (1937), Taylor (1938), Ørskov (1938), Lochhead (1952), Starr u. Williams (1952), Clark u. Carr (1951) beschrieben.

Zusammenfassend könnte man Bodendiphtheroide als eine Untergruppe des Corynebakterium *sensu lato* nach der Jensenschen Definition (1952) folgendermassen charakterisieren:

„Unregelmässige, stäbchenförmige Bakterien, die manchmal Abzweigungen bilden; sind wenigstens in irgendeiner Entwicklungsphase grampositiv. Sie sind sauerfest, gehen mit den Alter der Kultur in Kokkengestalt über, sind in ihrer stäbchenartigen Gestalt „vielgliedrig" und „polynukläoid", bilden kein Luftmyzelium und Sporen, und sind fast immer unbeweglich; auf festem Nährboden langsam in Gestalt kleiner (bis 2 mm) Kolonien wachsen, vorwiegend Pigment bilden (meist gelb oder hellgelb), auf Bouillon sehr langsam, oder garnicht wachsen. Vorwiegend von oxydativem Atmungstypus, manchmal mit schwach ausgedrücktem fermentativen Atmungstypus. Oft nützen sie Ammoniaksalze als Stickstoffquelle aus. Sehr wenige Stämme verlangen eine Anwesenheit von Aminosäuren oder Wachstumsfaktoren. Als Kohlen- und Stickstoffquelle nützen sie heterozyklische Verbindungen (Huminsäuren, Purine, Pyrimidine, Pyridine) aus. Die Mehrheit der Stämme besitz die Fähigkeit, als Kohlenstoff- und Energiequelle Kohlenwasserstoffe zu benutzen. Die Bakterien bilden Katalase. Sie zeichnen sich durch langsames Wachstum und langsam von sich gehenden Metabolismus aus".

Die eigentliche Role dieser Bodenbewohner beruht auf einer Mineralisation der Kohlenwasserstoffe und heterozyklischer Verbindungen, die

schwer zerlegbar sind. Ihre Teilnahme in der Umwandlung der Kohlehydrate und Aminosäuren ist im Hinblick auf ihre kleine Metabolismusintensvität wahrscheinlich sehr gering.

Diese Gruppe würde infolgedessen alle nicht parasitenartigen Corynebakterien, Connsche *Arthrobacter*gattung, *Jensenia, Microbacterium,* zelulolytische, bewegliche Corynebakterien umfassen.

Diese Gruppe wäre bei dieser Auffassung ziemlich deutlich von anderen verwandten Mikrobengruppen abgeschieden.

Von *Mycobacterium* unterscheidet sie sich durch das Fehlen von Säuerfestigkeit und einen kleinen Wachsinhalt, von *Nocardia (Proactinomyces)* — durch Fehlen des Luftmyzelium, von *Actinomyces* – durch Fehlen von Myzelium, Sporen und durch Wachstum in aeroben Bedingungen, vom *Lactobacillus* u. *Propionibacterium* durch Wachstum in aeroben Bedingungen, Katalasebildung und vorherschenden oxydativen Atmungstypus.

Die systematische Stellung dieser Gruppe innerhalb der *Schizomycetes* verdient eine genauere Untersuchung.

Krassilnikov (1934, 1948) reiht sie zusammen mit dem eigentlichen *Mycobacterium* und *Microbacterium* der Gattung *Mycobacterium,* die zur Familie der *Mycobacteriaceae* gehört (neben *Propionibacterium, Lactobacterium, Pseudobacterium und Mycococcus)*, an.

Die Auscheidung der sauerfesten eigentlichen Mykobakterien aus dieser Gruppe scheint genügend begründet zu sein und wird von allen Forschern anerkannt.

Die *Pseudobacterium*gattung ist ein ziemlich künstliches Gebilde, das sehr weit voneinanderliegende und sehr oft ungenügend beschriebene Kleinwesen umfasst.

Mycococcus ist wahrscheinlich, übereinstimmend mit der Vermutung von Jensen, identisch mit der Kokkenartigen Form der Diphtheroide.

Es scheint aber, dass die Verwandschaft der Diphtheroide mit den Proaktinomyceten viel näher ist, als es Krassilnikov annimmt. Querwände und Fadenbildung tritt auch bei Diphtheroiden auf. Das Zerfallen des Körpers zu Kokken kann nicht als genügendes Merkmal, welches die Diphtheroide von den *Proactinomyces* unterscheidet, anerkannt werden, denn selbst Krassilnikov (1948) beschreibt zB. *P. albus* und *P. pantotrophus* — deren Körper einer Fragmentation zu Kokkenformen unterliegt.

Einen grundsätzlichen Unterschied stellt die Bildung von Myzelium durch *Proactinomyces* dar. Diese Eigenschaft ist genügend klar und greifbar für die Anforderungen der Klassifikation. Nicht desto weniger bekannt sind Übergangsformen der *Proactinomyces,* bei denen unter dem Einfluss von Umgebungsfaktoren die Fähigkeit zum Bilden des Luftmyzeliums schwindet (Umbreit 1939, Ørskov 1923, 1938, Erikson, 1949a, 1949b, Appleby 1948, Krassilnikov 1948), wodurch sie den Diphtheroiden ähnlich werden.

Dieser Umstand erlaubt auch die Feststellung einer nahen Verwandschaft zwischen *Proactinomyces* und *Diphtheroiden.*

Umbreit (1939) gliederte Diphtheroide und Mykobakterien den *Proactinomyces* als Untergruppe „α" (die kein Luftmyzelium bilden) an. *Nocardia* — die Gruppe IIb von Ørskov ist eigentlich mit den Diphtheroiden identisch.

Bisset und Moore (1949) gliedern *Corynebacterium* zusammen mit *Mycobacterium* und *Nocardia* der Familie der *Mycobacteriaceae* ein. Unbegründet ist einzig das Ausscheiden durch sie der Gattung *Jensenia* und die Einreihung zur Familie der *Actinomycetaceae*. Der zytologische Bau, wie es die Arbeiten von Phillips (1953) und Kunicki, Stachal u. Urbańska (1953) zeigten, gibt keine genügend begründete Basis zu solcher Gliederung.

Erikson (1949b) behauptete, dass sogar eine Absonderung der *Actinomyces* von den *Nocardia* nicht notwending ist.

Das Eingliedern des *Corynebacterium* in die *Eubacteriales*, und des *Mycobacterium* und *Nocardia* in *Actinomycetales* (Bergey 1948) basiert auf einem völligen Missverständnis und findet keine Stütze in dem z. Z. vorliegenden Tatsachenbestand.

Die vorsichtigste und am besten begründete Stellung nimmt in dieser Beziehung Jensen (1952), dessen Anschauung grundsätzlich mit der Autoren übereinstimmt, ein.

Für die nahe Verwandschaft zwischen den Myko- und Corynebakterien und *Proactinomyces* sprechen zusätzlich Untersuchungsergebnisse von Slack u. Mitarb. (1951), die serologische Kreuz-reaktionen zwischen *Nocardia asteroider* und *C. diphtheriae* u. *Lactobacillus bifidus*, sowie *L. acidophilus* einerseits und *Streptomyces levandulae* u. *S. scabies* anderseits, beschrieben haben.

Die Bildung neuer Gattungen innerhalb einer Bodendiphtheroidengruppe hat keinen Anlehnungspunkt in der Wirklichkeit. Die Zahl solcher „Gattungen" kann man in Unendlichkeit verfielfachen, wenn man als Unterscheidungsmerkmale willkürlich und zufällig ausgesuchte Eigenschaften nimmt.

Im Grunde genommen ist bei Bakterien die Art eine viel grössere Gruppe, welche Formen vom einheitlichen morphologischen und physiologischen Typus umfasst.

Die Unterscheidung der „Arten" nur auf Grund des Auftretens einer zufällig ausgesuchten und wahrscheinlich oft biologisch unwichtigen Eigenschaft, ermöglicht einzig die Bildung einer lateinischen Bezeichnung und die Festsetzung des Namens eines Forschers unter dieser Bebzeichnung.

Nur dann, wenn, die Hervorhebung solcher spezieller Art aus praktischen Grunden wichtig ist, kann eine besondere Namengebung ausnahmsweise nützlich sein.

Im Falle der Diphtheroide, wo die Rolle und Bedeutung einzelner Gestalten für uns unklar ist, scheint das Bezeichnen der hervorgehobenen Arten mit Ziffern und Buchstaben zielsicherer zu sein.

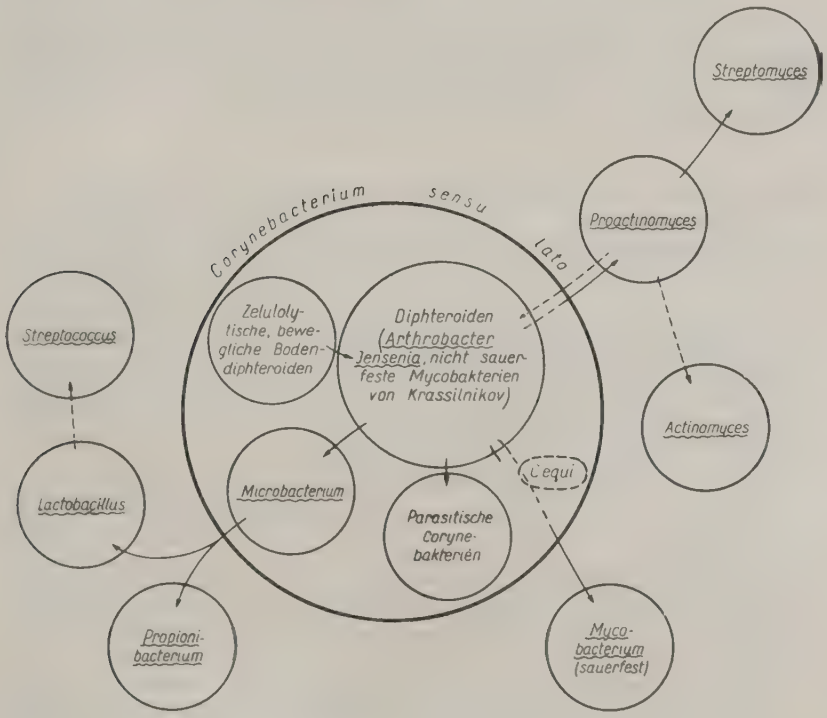
Die systematische Stellung der Diphtheroide könnte man in folgendes Schema fassen: (Seite 107).

Zwischen *Corynebacterium* und *Lactobacillus* bildet eine Übergangsgestalt einerseits *Microbacterium*, anderseits *Lactobacillus bifidus*, der von Orla Jensen (1943) zum *Corynebacterium* gerechnet wurde, sowie *L. acidophilus*, der mit *L. bifidus* (Norvis et al. 1950) identische Mutanten bildet.

Durch *C. equi* verbindet sich die Gruppe *Corynebacterium* mit *Mycobacterium*, das viel Ähnlichkeit mit *Actinomyces* aufweist.

Actinomyces unterscheiden sich von *Proactinomyces* vor allen Dingen

durch zytologischen Bau und Anaerobiose aus. Diese letzte Eigenschaft, wie aus älteren Untersuchungen von Bujwid (1889) und Mertens (1903) hervorgeht, kann einer Änderung unterliegen. Die Bebrütung in entsprechenden Verhältnissen führt zur Gewöhnung der *Actinomyces* an Wachstum in aeroben Bedingungen bei teilweisem Virulenzverlust.



Die obengenannten Formen der *Proactinomyces* mit schwindendem Luftmyzelium stellen den Übergang von *Proactinomyces* zu Diphtheroiden dar.

Auf diese Weise würde die ganze grosse Gruppe, die man als Klasse *Actinomyceae* gelten lassen könnte, ähnliche Formen einschliessen, die sich durch Zwischenformen miteinander verbinden.

Das obig angeführte Schema zeigt wahrscheinliche gegenseitige Verwandschaftsrelationen innerhalb dieser Klasse.

Für die ursprünglichsten sollte man vermutlich die beweglichen Wassercorynebakterien anerkennen. Bodendiphtheroide leite sich von ihnen als Landformen, meistens unbeweglich und deutlich den aeroben Verhältnissen

angepasst, ab. Von Wasserdiphtheroiden stammen wahrscheinlich auch zelulotytische Corynebakterien.

Mycobacterium und *Proactinomyces* könnte man als zwei weitere Phasen der evolutionären Entwicklung der Diphtheroide gelten lassen. Die höchste Entwicklungsstufe bilden in dieser Gruppe *Streptomycetaceae.*

Die Aktinomyceten wären also Formen, die sich aus *Proactinomyces* auf Wege der Anpassung zum Mikroaerophilen und parasitischen Lebenstypus herausgebildet haben. *Lactobacillus, Propionibacterium* und *Streptococcus* könnten aus Wasserdiphtheroiden entsprungen sein beim Übergang in Sauerstoffarmes und Nährstoffreiches Millieu (Aminosäuren, Kohlehydrate, Wachstumsfaktoren). Es konnten sich also mikroaerophile Formen mit grossen Nährstoffanforderungen entwickelt haben.

Wł. Kunicki-Goldfinger, K. Dygdała, B. Tuszyńska i *H. Doleżko*

DYFTEROIDY GLEBOWE CZ. III. WŁASNOŚCI FIZJOLOGICZNE I KLASYFIKACJA

Streszczenie

W celu ustalenia wartości niektórych własności fizjologicznych dla systematyki dyfteroidów glebowych przebadano 50 szczepów.

Wszystkie badane szczepy wykorzystywały jako źródło węgla: glukozę, laktozę, sacharozę i glicerol; jako źródło azotu — sole amonowe, azotany i pepton. Kwas huminowy był wyzyskiwany jednocześnie jako źródło węgla i azotu.

Własności fizjologiczne szczepów zebrano w tab. I.

U dyfteroidów przeważa oksydatywny typ oddychania (przeszło 90% szczepów).

Rozrzedzanie żelatyny występuje tylko w paru grupach i zachodzi b. powoli. Ponadto niektóre szczepy zatracają zdolność do upłynniania żelatyny w czasie przechowywania w laboratorium.

Stwierdzono dużą zgodność pomiędzy klasyfikacją szczepów opartą na własnościach morfologiczno-wzrostowych a podziałem uwzględniającym cechy fizjologiczne.

90% szczepów badanych rozkłada parafinę, naftę. 31% — ksylol, 21% — fenol, α-naftol.

Niektóre szczepy rozkładają ponadto: hydrochinon, rezocinol, orcinol (Tab. III—V).

Pod względem budowy antygenowej wyodrębnione grupy są niejednolite (Tab. VI).

Na podstawie analizy otrzymanych wyników oraz wyników innych badaczy, autorowie proponują następujące określenie dyfteroidów:

nieregularne, pałeczkowate bakterie, niekiedy tworzące rozgałęzienia, przynajmniej w pewnej fazie rozwojowej gramdodatnie; niekwasoodporne; z wiekiem przechodzą w postać ziarnkowca, w postaci pałeczkowatej „wieloczłonowe" i „wielonukleoidowe", nie tworzące grzybni powietrznej i zarodników, przeważnie nieruchliwe. Na podłożach stałych rosnące powoli w postaci małych (do 2 mm) kolonii, przeważnie wytwarzające pigment (najczęściej żółty lub kremowy), na bulionie rosnące bardzo powoli lub nie rosnące. Zwykle o oksydatywnym typie oddychania, niekiedy — słabo wyrażony fermentatywny typ oddychania. Przeważnie wykorzystujące jako źródło azotu sole amonowe; nieliczne szczepy wymagają obecności aminokwasów lub czynników wzrostowych. Wykorzystują heterocykliczne połączenie (zw. humusowe, puryny, pirymidyny, pirydyny) jako źródło azotu i węgla. Większość szczepów ma zdolność korzystania z węglowodorów jako źródła wę-

gla i energii. Wytwarzają katalazę. Odznaczają się powolnym wzrostem i wolno przebiegającą przemianą materii.

Miejscem ich bytowania jest gleba, a zasadnicza ich funkcja w glebie polega prawdopodobnie na mineralizacji połączeń heterocyklicznych.

Pogląd autorów na ich stanowiska systematyczne ilustruje schemat na str. 107.

Вл Куницки-Гольдфингер К. Дыгдала Б. Тушынска и Г. Долежко

ПОЧВЕННЫЕ ДИФТЕРОИДЫ. ЧАСТЬ III. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И КЛАССИФИКАЦИЯ.

Резюме

Для установления пригодности некоторых физиологических свойств для систематики почвенных дифтероидов было авторами исследовано 50 штаммов.

Для всех исследуемых штаммов источником углерода были: глюкоза, лактоза, сахароза и глицероль, а источником азота аммонийные соли, азотнокислые соли и пентон. Гуминовая кислота была одновременно источником и угля, и азота.

Физиологические свойства упомянутых штаммов сопоставлены на Табл. I.

У дифтероидов преобладает оксидативный тип дыхания (свыше 90% штаммов).

Разжижание желатины наблюдается лишь у некоторых групп и происходит весьма медленно. Сверх того некоторые штаммы теряют способность к разжижанию желатины во время хранения их в лаборатории.

Обнаружено большое сходство между классификацией штаммов, основанной на морфлогических свойствах и особенностях роста, а систематикой, учитывающей физиологические признаки.

90% исследуемых штаммов разлагают парафин, керосин, 31% — ксилол, 21% — фенол и α-нафтол.

Кроме того некоторые штаммы разлагают: гидрохинон, резорцинол, орцинол. (Табл. III, IV и V).

Выделенные группы по своей антигенной структуре неоднородны. (Табл. VI).

На основании проанализирования полученных результатов, а также результатов полученных другими исследователями, авторы предлагают следующее определение дифтероидов:

Нерегулярные, палочковидные бактерии, образующие иногда разветвления, по крайней мере в одной определенной стадии своего развития грамположительные, некислотоустойчивые, с возрастом принимают вид кокка, в виде палочки „многочленистые" и „многонуклеидные", не образующие воздушного мицелия и спор, преимущественно неподвижные, растущие на плотных средах медленно, приобретая вид малых колоний (до 2 мм), продуцирующие преимущественно пигмент (чаще всего желтый или кремовый), на мясопептонном бульоне растущие очень медленно или вовсе не растущие, преимущественно обладающие оксидативным типом дыхания, иногда слабо выраженным ферментативным типом дыхания, потребляющие главным образом аммонийные соли в качестве источника азота. Небольшое сравнительно количество штаммов требует наличия в среде аминокислот или витаминов. Потребляют гетероциклические соединения (гуминовые кислоты, пурины, пиримидины, пиридины), как источники азота и углерода. Большинство штаммов обладает способностью потреблять углеводороды как источники углерода и энергии. Продуцируют каталазу. Характери-

зуются медленным ростом и медленно протекающим обменом веществ.

Их местообитанием является почва, а основная их функция в почве заключается, повидимому, в минерализации гетероциклических соединений.

Взгляд авторов относительно их систематического положения иллюстрирует схема на стр 107.

LITERATUR

1. Appleby J. C., 1948: *J. gen. Microbiol.*, 2:80, wg Erikson, 1949b.
2. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6-thed., Williams a. Wilkins Co., Baltimore 1948.
3. Bisset K. A. a. Moore F. W., 1949: The relationship of certain branched bacterial genera, *J. gen. Microbiol.*, **3**:387.
4. Bujwid O., 1889: Hodowle promienicy, *Gaz. Lek.*, No 52.
5. Bushnell L. D. a. Haas H. F., 1941: The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms, *J. Bact.*, **41**:654.
6. Clark F. E. a. Carr P. H., 1951: Motility and flagellation of the soil Corynebacteria, *J. Bact.*, **62**:1.
7. Conn H. J., 1928a: Certain abundant non-spore-forming bacteria in soil., *Zbl. Bakt., II*, **73**:65.
8. Conn H. J., 1928b: A type of bacteria abundant in productive soils, but apparently lacking in certain soils of low productivity, *N. Y. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* No 138.
9. Conn H. J., 1948: The most abundant groups of bacteria in soil., *Bact. Rev.*, **12**:257.
10. Conn H. J. a. Dimmick J., 1947: Soil bacteria similar in morphology to *Myco-* and *Corynebacterium., J. Bact.*, **54**:291.
11. Conn H. J. a. Dimmick J., 1948: Soil bacteria of the genus *Arthrobacter, Soil Sci.*, **65**:349.
12. Dooren de Jong, L. E. den, 1926: Bijdrage tot de kennis van het mineralisatie-proces. Thesis, Delft. oraz *Zbl. Bakt. II*, 1927, **71**:193.
13. Erikson D., 1949a: Differentiation of the vegetative and sporogenous phases of the *Actinomycetes.* 4, The partially acid-fast *Proactinomycetes, J. gen. Microbiol.*, **3**:361.
14. Erikson D., 1949b: The morphology, cytology and taxonomy of the *Actinomycetes., Ann. Rev. Microbiol.*, **3**:23.
15. Evans W. C., 1947: Oxidation of phenol and benzoic acid by some soil bacteria, *Biochem. J.*, **41**:373.
16. Gale C. R., 1952: The oxidation of benzoic acid by *Mycobacteria*, p. I. a. II. *J Bact.*, **63**:273, **64**:131.
17. Gray P. H. a. Thornton H. C., 1928: Soil bacteria that decompose certain aromatic compounds., *Zbl. Bakt, II*, **73**:74.
18. Horvath J., 1943: *Arch. Mikrobiol.*, **13**:373.
19. Jensen H. L., 1933: Contribution to our knowledge of *Actinomycetales* IV, The identity of certain species of *Mycobacterium* a. *Proactinomyces, Proc. Lin. Soc. N. S W.*, **57**:364.
20. Jensen H. L., 1940: *Proc. Lin. Soc. N. S. W.*, **65**:543, wg Jensen 1952.
21. Jensen H. L., 1951: Nitrification of oxime compounds by heterotrophic bacteria. *J. gen. Microbiol.*, **5**:360.
22. Jensen H. L., 1952: The coryneform bacteria, *Ann. Rev. Microbiol.*, **6**:76.

23. Krassilnikow N. A., 1934: Die Entwicklungsgeschichte der Bodenmykobakterien, *Zbl. Bakt. II,* **90**:428.
24. Krassilnikow N. A., 1948: Opriedielitiel baktierii i aktinomicetow, A. N. S. S. S. R., Moskwa.
25. Kunicki-Goldfinger Wł., Kowalska J. u. Sabbo M., 1953: Bodendiphtheroiden I, Morphologie u. Wachstumseigenschaften, *Acta Microbiol. Polon.*, 2:277
26. Kunicki-Goldfinger Wł., Stachal Wł., u. Urbańska M.,1953. Bodendipheroiden II, Cytologie, *Acta Microbiol. Polon.,* **2**:287.
27. Küster E., 1950: Untersuchungen über die Bildung und Zersetzung von Humusstoffen durch Mikroorganismen, *Arch. Mikrobiol.,* **15**:1.
28. Lara F. G. S., 1952: On the decomposition of pyrimidines by bacteria, *J. Bact.*, **64**:271.
29. Levine S. a. Krampitz O., 1952: The oxidation of acetone by a soil diphteroid, *J. Bact.,* **64**:645.
30. Lochhead A. G. a. Chase F. E., 1943: Soil Sci., **55**:185 wg Magnus 1947.
31. Lochhead A. G. a. Thexton R. H., 1951: *Nature,* **167**:1034.
32. Lochhead A. G. a. Thexton R. H., 1952: Qualitative studies of soil microorganisms, *J. Bact.,* **63**:219.
33. Lochhead A. G., 1952: Soil Microbiology, *Ann. Rev. Microbiol.,* **6**:185.
34. Lochhead A. G. a. Burton M. O., 1953: An essential bacterial growth factor produced by microbial synthesis, *Canad. J. Bot.,* **31**:7.
35. Magnus v. R., 1947: *Acta Path. Microbiol. Scand.,* **25**:11.
36. Mertens V. E., 1903: Beiträge zur Aktinomykoseforschung, *Z. f. Hyg.,* **42**:45.
37. Moore F. W., 1949: The utilization of pyridine by micro-organisms, *J. gen. Microbiol.,* **3**:143.
38. Müller T. u. Schwartz W., 1950: Untersuchungen zur Erdbakteriologie., *Arch. Mikrobiol.,* **14**:291.
39. Müller H., 1950: Oxalsäure als Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen, *Arch. Mikrobiol.,* **15**:137.
40. Nieczajewa H. B., 1949: Dwa wida mikobakterii okislajuszczich mietan, *Mikrobiologia,* **18**:310.
41. Norris R. F., Flanders T., Tomarelli R. M. a. Györgi P., 1950: *J. Bact.,* **60**:681.
42. Obojska K. 1953: Rozkład węglowodorów nasyconych i nienasyconych przez mykobakterie saprofityczne, *Acta Microbiol. Polon.,* **2**:129.
43. Orla Jensen, 1943: Kgl Danske Videnskab. Selskab. Biol Skrifter, **2**:1 wg Jensen 1952.
44. Osnicka L. K., 1946: Razruszenje uglewodorodow bakteriami, *Mikrobiologia,* **15**:z. 3.
45. Ørskov J., 1923: Investigations into the morphology of the ray fungi. Levine. Munksgaard, Copenhagen — wg. Erikson 1949.
46. Ørskov J., 1938: Untersuchungen über Strahlenpilze reingezüchtet aus dänischen Erdproben, *Zbl. Bakt. II,* **98**:344.
47. Phillips H. C., 1953: Characterization of the soil globiformae bacteria. *Iowa St. Coll. J. of Sci.,* **27**:240.
48. Plotho O. v., 1948: Untersuchungen an Proactinomyceten, *Arch. Mikrobiol.,* **14**:12.

49. Quastel J. H., Scholefield P. G., a. Stefenson J. W., 1952: Oxidation of pyruvic acid oxime by soil organisms. *Biochem. J.*, **51**:278.
50. Robotnowa I. L., Ułubiekowa N. W. i Magnitska L. W., 1950: O baktierialnom okislenii niefti i jejo migracji w prirodnych wodojemach. *Mikrobiologia*, **19**, z. 3.
51. Roulet M. A., 1948, *Experientia*, **4**:149.
52. Schmidt E. L., 1951: *Soil Sci.*, **71**:129.
53. Skarżyński B. a. Czekalowski J. W., 1946: Utilization of phenols and related compounds by *Achromobacter*, *Nature*, **158**:304.
54. Slack J. M., Ludwig E. H., Bird H. H. a. Canby Ch. M., 1951: Studies with microaerophilic *Actinomycetes*. *I*, The agglutination reaction, *J. Bact.* **61**:721.
55. Söhngen N. L., 1906: Ueber Bakterien, welche Methan als Kohlenstoffnahrung u. Energiequelle gebrauchen. *Zbl. Bakt. II*, **15**:513.
56. Söhngen N. L., 1913: Benzin, Petroleum, Paraffinöl u. Paraffin als Kohlenstoff- u. Energiequelle für Mikroben. *Zbl. Bakt. II*, **37**:593.
57. Stone R. W., Fenske M. R., a. White A. G., 1952: Bacteria attacking petroleum and oil fractions, *J. Bact.*, **64**:169.
58. Szturm P. D., 1950: Mikroskopiczieskije issledowania nieftonosnych plastiewych wod. *Mikrobiologia*, **19**:32.
59. Taussow B. O., 1950: Osnownyje położenia rastitielnoj bioenergietyki. A. N. S. S. S R., Moskwa.
60. Tausz J. u. Peter M., 1919: Neue Methode der Kohlenwasserstoffanalyse mit Hilfe von Bakterien, *Zbl. Bakt., II*, **49**:497.
61. Taylor C. B., 1938: Further studies of *Bact. globiformae* and the incidence of this type of organisms in Canadian soil, *Soil Sci.*, **46**:307.
62. Topping L., 1937: The predominant microorganisms in soils. I. Description and classification of the organisms, *Zbl. Bakt., II*, **97**:289.
63. Turtiff G. E., 1934, *J. Bact.*, **47**:487.
64. Umbreit W. W., 1939: Studies on the Proactinomyces, *J. Bact.*, **38**:73.
65. Zo Bell C., 1946: Action of microorganisms on hydrocarbons, *Bact. Rev.*, **10**:1.

Д. Верценска.

ОБОЗНАЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ПЕНИЦИЛЛИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ ПРИ ПОМОЩИ РЕДУКТАЗНОЙ ПРОБЫ

Из Кафедры Общей Микробиологии Университета им. Марии Кюри-Склодовской в Люблине.

Получ. 4.XI.1953.

Для ускорения времени отсчета при обозначании количества пенициллина и биологических жидкостях существует несколько модификаций турбидиметрического метода (Foster 1942, Foster и Wilker 1943, Joslyn 1944, Mc Mahan 1944, Berridge и Barret 1952).

Другие исследователи использовали для обозначения концентрации пенициллина его тормозящее действие на некоторые физиологические функции бактерий. Чаще всего в качестве такого индикатора, при помощи которого можно измерять заторможение физиологической активности, а посредственно и роста, применялись гемолитические пробы.

Заторможение гемолиза красных кровяных телец, вызываемого культурой стрептококков, считалось показателем действия пенициллина. В 1942 г. Rammelkamp описал такой метод. Недостаток этого метода заключается в необходимости строгого соблюдения стерильных условий и в сравнительно продолжительном времени нужным для получения результата (18 часов + 18 часов на проведение контроля стерильности).

Модификации относительно техники пробы — введенные Fleming (1943), а позднее Heilman и Herell, позволили в значительной степени уменьшить ошибку в обозначании. В то же самое приблизительно время Rak и Jones (1945) описали быстрый метод титрования пенициллина при помощи гемолитической пробы, сокращая необходимое для получения результата время до 55 мин.

В качестве индикатора действия пенициллина использовано тоже изменения в интенсивности дыхательных процессов бактерий или их заторможении.

Hirsch (по Левитову, Вышепану и Ненашевой 1945) в качестве индикатора использовал потребление кислорода бактериями определяемое манометрически, Goth и Busch (1944) — процесс восстановления азотнокислых солей. Левитов, Вышеван и Ненашева определяли изменения активности дегидрогеназы.

Редуктазная проба была предложена Reid и Brewer (1946). Разные видоизменения этого метода разработали: Sanchez и Lamensas (1947), Hirsch (1950). Friedman и Epstein (1951), Фишер (1951), Хоменко (1950).

Отсчет результатов возможен через 2,5 час. (Sanchez и Lamensas) — через 7 час. (Хоменко).

В настоящей работе нашим стремлением является разработать метод, дающий сравнительно скоро ответ, метод простой и допускающий использование нестерильных проб.

В качестве тест-штамма был у потреблен Staphylococcus aureus Oxford[1].

Необходимой предпосылкой было подобрать наименьшую густоту бактериальной взвеси, которая в глюкозном бульоне вызывала бы восстановление метиленовой сини в нижней половине пробирки в течение 30 минут, а затем определить величину замедления восстановления под влиянием различных концентраций пенициллина. S. aureus культивировался 24 часа на агаровой среде (мясной бульон — 500 мл, дистиллированная вода — 500 мл, пептон Витте — 10 г., NaCl — 5,0 г, агар — 20 г, pH — 7,0). Культура сполоскивалась 0,85%-ым раствором NaCl, после чего густота взвеси была определяема нефелометрически.

К ряду пробирок, содержащих каждая 1,0 мл мясно-пептонного бульона (мясной бульон — 500 мл, пептон Витте — 5,0 г, NaCl — 2,5 г. глюкозы — 5 г, pH — 7,0) и 0,4 мл раствора метиленовой сини (1 : 10000), добавлялось по 0,1 мл так разведенной бактериальной взвеси, чтобы получить окончательные густоты, приведенные на Табл. 1.

После тщательного смешания содержимого пробирок они инкубировались в водной бане при температуре 37° и отмечалось время обезкрашивания метиленовой сини в нижней половине пробирки.

Зависимость между временем обезкрашивания а количеством бактерий иллюстрирует Табл. 1 и Чертеж 1.

На основании полученных данных как найболее выгодная была установлена густота взвеси, содержащей 100.10^6 бактерий в 1 мл.

Чтобы проследить влияние пенициллина на замедление момента восстанавливания метиленовой сини, к ряду пробирок доливалось по 1,0 мл мясно-пептонного бульона (состав его см. выше), 0,4 мл раствора метиленовой сини (1 : 10000), 0,1 мл взвеси суточной культуры S. aureus Oxford такой густоты, чтобы окончательная концентрация бактерий составляла 100.10^6 клеток в 1 мл, а также 0,1 мл соответсвенных разведений пенициллина (натриевая соль кристаллического пенициллина G [The Distillers Co (Biochemical) Ltd].

Затем пробы встряхивались и помещались в водной бане (37°), после чего отмечался промежуток времени, необходимый для обесцвечения метиленовой сини в нижней половине колонки жидкости.

При обозначании концентрации пенициллина в моче к пробиркам добавлялось по 1,0 мл мясно-пептонного бульона, 0,4 мл метиленовой сини, 0,1 мл взвеси S. aureus и по 0,5 мл разных разведений испытуемой мочи.

Густота бактериальной взвеси была так подобрана, чтобы окончательная ее концентрация составляла 100.10^6 клеток в 1 мл.

---

[1] Полученный из Отдела Антибиотиков PZH от доц. Курыловича, за что передаем ему на этом месте нашу глубочайшую благодарность.

Таблица I

Влияние густоты взвеси *S. aureus Oxford* на скорость обесцвечивания метиленовой сини.

Wpływ gęstości zawiesiny *S. aureus Oxford* na szybkość odbarwiania błękitu metylenowego.

The relation between the amount of *Staphylococcus aureus* cells and the time of methylene blue reduction.

Густота взвеси (количество бактерий в 1 мл. 10^6)	Скорость обесцвечивания метиленовой сини (минуты)
160	15 ± 0
133	30 ± 0
120	30 ± 0
100	30 ± 0
66,5	45,6 ± 1,2
60,0	52,8 ± 0,9
53,0	56,7 ± 1,3
30,0	70,3 ± 1,7
26,5	75,6 ± 0,7
20,0	97,2 ± 2,9
13,0	107,2 ± 0,2
10,0	159,1 ± 1,6
6,7	170,6 ± 0,5

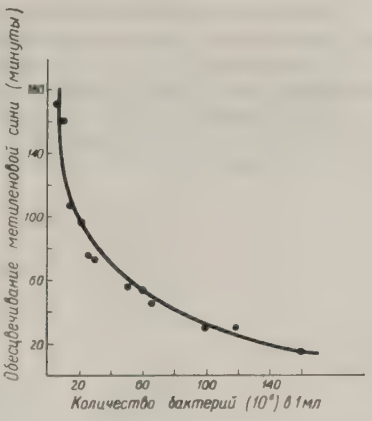


Рис. 1. Влияние густоты взвеси *S. aureus* на скорость обесцвечивания метиленовой сини

Rys. 1. Wpływ gęstości zawiesiny *S. aureus* na szybkość odbarwiania błękitu metylenowego.

Fig. 1. The relation between the amount of *S. aureus* cells and the time of methylene blue reduction.

Несколько большее разведение мясно-пептонного бульона, возникшее вследствие добавления по 0,5 мл разведений мочи вместо 0,1 мл разведений пенициллина, не оказывает сколько-нибудь значительного влияния, как убедили нас в этом специальные предварительные пробы, на продолжительность времени обесцвечивания метиленовой сини.

Моча больных, леченных пенициллином, из Клиники Внутренних Болезней Медицинской Академии в Люблине бралась[2] 1,3 и 5 часов спустя после внутримышечного введения антибиотика.

Пробы оставались на хранении в холодильнике и были подвергнуты исследованию в тот же день.

Перед приступлением к исследованию моча подогревалась в течение 30 минут при температуре 60°, так как это имеет большое влияние на большое унифицирование результатов.

---

[2] За разрешение использования материала и оказанную помощь в получении проб автор глубоко благодарен директору Клиники а также всему ее личному составу.

Контрольные пробы, в которых соответственные разведения пенициллина производились в нормальной моче, показали, что наличие мочи не влияет при примененному методу в сколько-нибудь значительной степени на время замедления восстановительной реакции, вызванного пенициллином.

Как это ясно следует из Табл. II (чертеж 2) разработанный нами метод дает возможность обнаруживания при применении S. aureus Oxford 0,0125 единиц пенициллина в 1 мл раствора.

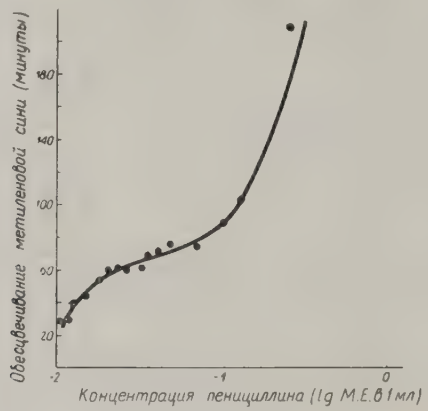


Рис. 2. Влияние разных концентраций пенициллина на скорость обесцвечивания метиленовой сини

Rys. 2. Wpływ różnych stężeń penicyliny na czas odbarwiania błękitu metylenowego

Fig. 2. The influence of increasing penicillin concentrations on the time of methylene blue reduction

Следовательно, даже сравнительно небольшие колебания в концентрациях антибиотика вызывают, если его количество колеблется в границах от 0,0125 до 0,0200 м. е., ясно выраженное заторможение восстановительного процесса.

Вследствие этого возникает необходимость сравнительно значительного разведения испытуемых проб.

Результаты примерных обозначений количества пенициллина в моче иллюстрирует Табл. III.

Предлагаемый метод сравнительно прост. Исследуемые пробы не должны быть обязательно стерильные, не обязательно также строгое соблюдание стерильных условий самой работы. Отсчет результатов облегчен благодаря отчетливо измененному цвету.

Таблица II

Влияние разных концентраций пенициллина на продолжительность обесцвечивания метиленовой сини

Wpływ różnych stężeń penicyliny na czas odbarwiania błękitu metylenowego.
The influence of increasing penicillin concentrations on the time of methylene blue reduction.

Концентрация пенициллина (М.Е.жмл)	Скорости обесцвечивания метиленовой сини (минуты)	
	I серия	I серия
1,0	210	—
0,5	210	—
0,25	210	—
0,125	105,8	—
0,10	90	210
0,0667	74,1	75
0,05	75,0	75
0,04	71,1	75
0,0333	70,0	75
0,0286	63,3	61
0,0250	61,7	63
0,0222	61,7	63
0,0200	60,0	62
0,0167	54,7	45
0,0143	44,2	43
0,0125	40,0	32
0,0111	31,2	31
0,01	30	33
0	30	30
0	30	30

Быстрое определяние количества пенициллина при помощи турбидиметрических методов требует добавочной аппаратуры (напр. абсорбциометра). Применяние гемолитической пробы является довольно хлопотливым из-за необходимости соблюдания стерильных условий во время работы, причем точность в обозначении количества пенициллина не особенно велика, а при быстрых пробах (Rak и Jones, 1945) даже очень мала.

Существующие до сих пор методы обозначания количества пенициллина с помощью редуктазного метода требовали гораздо более продолжительного времени для получения результатов (Reid и Brewer 1946 — 4 часа, Sanchez и Lamensas 1947 — 2,5 часа, Хоменко 1951 — 4 — 7 часов). Один лишь метод Friedmann и Epstein (1951) дает возможность определить количество низина в течение около 45 минут.

Таблица III

Обозначение количества пенициллина в моче. Продолжительность обесцвечивания метиленовой сини.

Oznaczanie penicyliny w moczu. — Czas odbarwiania błękitu metylenowego
The estimation of penicillin concentration in the urine — Time of methylene blue reduction.

No пробы	Время после введения пенициллина	Разбавление мочи						
		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
III	1	150	150	150	142	98	60	30
	3 — 4	150	150	107	87	30	30	30
	5 — 6	30	30	30	30	30	30	30
IV	1	150	150	150	146	135	60	30
	3 — 4	150	150	118	100	75	30	30
	5 — 6	45	30	30	30	30	30	30
V	1	150	150	150	150	150	120	60
	3 — 4	150	150	135	90	60	30	30
	5 — 6	30	50	30	30	30	30	30
VI	1	150	150	130	125	118	90	·
	3	140	120	100	78	53	30	·
VII	1	180	160	145	130	110	80	
	3	160	150	115	90	70	45	

D. Wiercieńska

OZNACZENIE PENICYLINY W PŁYNACH USTROJOWYCH ZA POMOCĄ PRÓBY REDUKTAZOWEJ

Streszczenie

Opisano metodę oznaczania penicyliny w moczu, przy zastosowaniu jako wskaźnika — zahamowania redukcji błękitu metylenowego przez oznaczoną ilość komórek *S. aureus* w określonych warunkach.

Proces redukcji zostaje wyraźnie zahamowany, gdy stężenie ostateczne penicyliny nie przekracza 0,025 jednostek na 1 ml.

Odczytu dokonuje się po 30 minutach inkubacji, a cała próba, przy masowym oznaczaniu, zajmuje łącznie z pipetowaniem płynów, nie więcej niż około 1 godziny na jedną serię oznaczeń.

D. Wiercieńska

THE ASSAY OF PENICILLIN IN THE URINE BY REDUCTASE METHOD

Summary

The assay was based on the delay of methylene blue decolouration (reduction) by a standard bacterial suspension in glucose broth.

The time of methylene blue reduction was related to penicillin concentration over a range of 0,01 — 1,0 units/ml.

The accuracy of reductase technique was good.

The procedure is more rapid than any of the other methods used.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berridge N. J. a. Barrett J., 1952: A rapid method for the turbidimetric assay of antibiotics., *J. gen. Microbiol.*, **6**:14.
2. Chomienko T. A., 1951: Opyt primienianija mietilenowej sini w kaczestwie indikatora dla kollorimietriczeskogo titrowania pienicilina. *Trudy Leningr. San. Gig. Inst.*, 5:149.
3. Fiszer M. N., 1951: Woprosy titrowanija antibioticzeskoj aktiwnosti pienicilina. *Trudy Leningr. San. Gig. Inst.*, 5:125.
4. Fleming A., 1943: Streptococcal meningitis treated with penicillin; measurment of bacteriostatic power of blood a. cerebrospinal fluid. *Lancet*, **1943**:434.
5. Foster J. W., 1942: Quantitative estimation of penicillin. *J. Biol. Chem.*, **144**:285.
6. Friedman R. a. Epstein C., 1951: The assay of the antibiotic nisin by means of a reductase test. *J. gen. Microbiol.*, 5:830.
7. Goth A. a. Busch M. F., 1944: *Ind. Eng. Chem.*, **16**:451.
8. Heilman D. H. a. Herell W. E., 1945: The use of Fleming's modification of the Wrigth slide cell technic for determining penicillin in body fluids. *Am. J. Clin. Path* wg Herell W. E. u. Schulze E.: Penicillin und andere Antibiotica. 1949, S. Hirzel Verlag, Stuttgart.
9. Hirsch A., 1950: The assay of nisin. *J. gen. Microbiol.*, **4**:70.
10. Joslyn D. A., 1944: Penicillin assay; outline of four-hour turbidimetric method. *Science*, **99**:21.
11. LewitowM. M., Wyszepan E. D. i Nienaszewa A. H., 1945: Nowyj mietod opriedielanija penicilina. *Biochimia*, **10**:491.
12. Mc Mahan J. R., 1944: An improved short-time turbidimetric assay for penicillin. *J. Biol. Chem.*, **153**:249.
13. Rammelkamp C. H., 1942: A method for determining the concentration of penicillin in body fluids and exudates. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **51**:95.
14. Rak G. a. Jones H., 1945: A rapid method for estimation of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **54**:189.
15. Reid R. D. a. Brewer J. H., 1946: The reductase method for the determination of penicillin concentration in body fluids. *J. Bact.*, **52**:251.
16. Sanchez G. et Lamensas A., 1947: Méthode de dosage rapide de la pénicilline et de la streptomycine. *C. r. Acad. Sci.*, **224**:1189.

B. Brzezińska-Dudziak

OZNACZANIE ILOŚCI AMEB W GLEBIE WG ZMODYFIKOWANEJ METODY SINGH'A *

Z Zakładu Mikrobiologii Ogólnej UMCS w Lublinie i Zakładu Ekologii Roślin IHAR Zespół Puławy

Wpłynęło dn. 12.XI.1953 r.

Celem tej pracy było sprawdzenie przydatności metody Singha dla obliczania ilościowego ameb w glebach w zastosowaniu do gleb polskich.

Metodę S i n g h a (1946) zmodyfikowano następująco: w miejsce używanych przez niego szklanych pierścieni, umieszczanych na zestalonym agarze w płytce Petriego, stosowano krążki agarowe umieszczone w ilości 8 na płytce Petriego. Daje to dużą oszczędność agaru i podobnie jak przy użyciu pierścieni wyklucza stykanie się poszczególnych wysepek agarowych między sobą. Krążki przygotowywano w ten sposób, że nalewano jałowy płynny agar do jałowej rurki szklanej o średnicy 2 -2,5 cm, a po jego zastygnięciu cięto jałowo na krążki grubości 1 cm. Następnie umieszczano je jałowo na płytkach Petriego.

Krążki zasiewano kroplą gęstej, niemal pastowatej zawiesiny sporządzonej z dwudniowej hodowli *Aerobacter aerogenes*.

Zmodyfikowano także sposób odczytywania wyników. Mianowicie odczytywano wyniki pod mikroskopem (najmniejsze suche powiększenie) przyjmując za wynik dodatni zarówno obecność form wegetatywnych, jak i cyst ameb. Ten sposób odczytywania daje pewniejsze wyniki, gdyż makroskopowo czasami nie jest widoczne zniknięcie bakterii, szczególnie przy większych rozcieńczeniach gleby, a mikroskopowo stwierdza się nieraz dość znaczne ilości ameb. Mikroskopowe odczytywanie pozwala także skrócić czas inkubacji z dwu tygodni do tygodnia, gdyż wyniki uzyskane po obu tych okresach są identyczne.

Rozcieńczenia gleby robiono wg metody Singha i posługiwano się podaną przez niego tablicą przeliczeniową. Według tej samej metody obliczano także ilość cyst na gram gleby zabijając formy wegetatywne przy pomocy 2% HCl. Metodę zabijania form wegetatywnych podała C u t l e r (1920).

Materiałem badanym były próbki gleb z poletek doświadczalnych Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Puławach. Przebadano 18 próbek glebowych spod różnych upraw.

---

* Praca wykonana częściowo w oparciu o dotację CIR.

Tabela I

Ilość ameb na g suchej gleby

The numbers of amoebae per g dry soil

Количество амёб в 1 г. сухого веса почвы.

Data pobrania próby	Rodzaj uprawy	ilość ameb na 1 g gleby	ilosc cyst na 1 g gleby	pH gleby	Rodzaj gleby
16.VII. 1953	Ryż pięcioletni — Kępa	64.500	59 000	7,9	gleba pod wodą
„	Ryż jednoroczny — Kępa	110 000	92 000	7,7	„
2.VIII. 1953	Koksaghyz — Las 20 pol	1 690 000	1 690 000	5,9	piasek
„	Koksaghyz — Kępa	1 690 000	1 690 000	7,7	glina
„	Koksaghyz dwuletni — Kępa	1 690 000	931 000	8,1	glina
„	Bawełna	1 690 000	1 430 000	5,2	glina
„	Bawełna — Las — 20 pol. bez kompostu	1 690 000	1 230 000	7,7	piasek
„	Bawełna — Bułgarska — Kępa	1 690 000	1 690 000	7,7	glina
„	Bawełna — Las — 20 pol. na kompoście	1 690 000	1 690 000	7,7	piasek
24.VIII. 1953	Ziemniaki — Las — pol. c/2	650 000	344 000	6,2	piasek
„	Ziemniaki — Las — pol. c/4	650 000	192 000	6,2	piasek
„	Gryka — gleba z rżyska — Osiny	421 000	824 000	6,5	piasek-glina
„	Gryka rosnąca — Osiny	1 430 000	931 000	6,5	piasek-glina
„	Gryka — Las P. 3 d.	1 690 000	467 000	5,4	piasek
„	Ziemniaki B—Kępa	1 690 000	520 000	7,7	glina
„	Ziemniaki C—Kępa	1 690 000	467 000	7,7	glina
„	Proso rosnące — Osiny	467 000	581 000	7,0	piasek-glina
„	Proso ścięte — Osiny	1.690 000	467 000	7,0	piasek-glina
„	Ryż pięcioletni — Kępa	1.690 000	1 690 000	7,9	gleba sucha
„	Ryż jednoroczny — Kępa	421 000	1 060 000	7,7	„

DYSKUSJA

Otrzymane wyniki wskazują na wielką ilość ameb znajdujących się w badanych glebach. Najmniejsza ilość znajdowała się w glebie pod ryżem w okresie nawodnienia. Wynika to prawdopodobnie stąd, że stworzyły się w tych glebach warunki beztlenowe, niesprzyjające rozwojowi tych organizmów. Świadczy o tym także fakt, że znaczną większość znalezionych form stanowiły cysty.

Wpływu rodzaju roślin uprawianych na badanych glebach, pH, ani składu mechanicznego gleb na ilość ameb nie stwierdzono. W tym celu należałoby przebadać więcej próbek w różnych okresach wegetacji rośliny, brać także pod uwagę wiele innych czynników, jak temperatura, wilgotność, a także ilość bakterii bytujących w tym czasie w badanych glebach.

Duże ilości ameb znalezione w badanych próbkach gleb, wielokrotnie nie pozwoliły na ścisłe określenie ich ilości wg metody Singha, gdyż tabela tego autora obejmuje jedynie 15 rozcieńczeń. W obecnych badaniach ta ilość rozcieńczeń okazała się za mała. Należałoby metodę tę dla naszych gleb rozszerzyć, stosować więcej rozcieńczeń i uzupełnić podaną tablicę.

W badanych glebach ameby występują w dużej ilości w postaci cyst. Jest to prawdopodobnie wynikiem tego, że próbki pobierane były w okresie suszy, którą organizmy te mogą przetrwać w tej postaci.

W trzech przypadkach otrzymano większą ilość cyst, niż wynosiła ogólna ilość ameb w glebie. Ten absurdalny wynik pochodzi prawdopodobnie stąd, że ameby, a szczególnie cysty, występują w glebie nie pojedynczo, lecz w skupieniach, które przy wstrząsaniu podczas rozcieńczania mogły nie ulec rozpadowi. Natomiast po zadziałaniu kwasem solnym, agregaty te ulegają rozpadowi i otrzymuje się bardziej jednolitą zawiesinę, co w rezultacie powoduje pozorne zwiększenie ilości ameb. Agregaty cyst bardzo często obserwowano w trakcie obecnych badań. Można nawet powiedzieć, że pojedyncze cysty spotyka się bardzo rzadko. Według Cutler pierwotniaki są adsorbowane przez glebę i widoczne dopiero po silnym roztarciu jej w wodzie.

Zagadnienie, czy wszystkie formy wegetatywne giną po zadaniu gleby 2% HCl na przeciąg 12 godzin nie było sprawdzone odnośnie gatunków występujących w badanych glebach. Sprawdzanie działania kwasu przeprowadzał w swych badaniach Singh i potwierdził w zupełności wyniki otrzymane przez Cutler. Jest to według tych badaczy najlepsza metoda zabijania form wegetatywnych.

W badanych glebach znaleziono dwa gatunki ameb. Amebę małą dającą cysty okrągłe i amebę dużą, dającą cysty o nieregularnych kształtach gwiazdkowatych lub trójkątnych. Gatunki te nie zostały oznaczone. W metodzie tej poza tymi amebami innych pierwotniaków nie obserwowano.

WNIOSKI

Metoda Singha może być stosowana, po pewnym uzupełnieniu, do badań ilościowych nad zawartością ameb w naszych glebach. Jest ona stosunkowo szybka, nieskomplikowana i tania. Daje wyniki bardzo dokładne. Przebadać należy jednak wiarygodność metody Cutler — zabijania form wegetatywnych oraz wpływu tej metody na rozbijanie agregatów cyst.

Б. Бжезинска-Дудзяк

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА АМЁБ В ПОЧВЕ ПО ВИДОИЗМЕНЕННОМУ МЕТОДУ СИНГА

Резюме

Автор применил для подсчета амёб в почве видоизмененной метод Синга (выращивание амёб на агаровых блоках, отсчет результатов с помощью микроскопа).

Продолжительность времени исследования можно сократить до недели, причем количество положительных результатов увеличивается.

Применяние HCl, как фактора убивающего вегетативные формы при подсчете цист, приводит одновременно к раздроблению агрегатов цист, выступающих нормально в почве, и как следствие этого к получению более высоких результатов. Количество амёб в исследуемых почвенных пробах колеблется от 421.000 до > 1 690.000 в 1 г. Лишь только в почвах засеянных рисом во время наводнения это количество падает до 64.000 в 1 г.

B. Brzezińska-Dudziak

SOIL-AMOEBAE COUNTING BY THE MODIFIED DILUTION TECHNIQUE OF SINGH

Summary

The soil dilutions were deposited on separated agar blocks (8 blocks per Petri dish). The presence of amoebae was ascertained by microscopic examination (low dry power). This modification allow to economize agar, give more positive results and shorten the duration of the experiment to one week.

The amoebae cysts were counted according to Cutler. In some instances the count of cystic forms of amoebae was higher than the total count. May be this paradoxical results were due to the desaggregation of cysts-aggregate under the influence of HCl. The great percentage of amoebae-cysts in the soil-suspensions occured in the form of aggregates.

The number of amoebae in examined soils was rather high (from 421 000 to > 1 690 000) with the exception of the soil from flooded rice-field (64 500 per g, Table I). The majority of the amoebae was in the cystic forms.

LITERATURA

1. Cutler D. W., 1920: A method for estimating the number of active *Protozoa* in the soil. *J. agric. Sci.*, **1**:135.
2. Singh B. W., 1946: A method of estimating of soil *Protozoa*, especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Ann. Appl. Biol.*, **33**:112.

D. Shugar

LIZOZYM

ЛИЗОЦИМ

LYSOZYME

Z Działu Biochemii PZH Warszawa

Wpłynęło dn. 13.VII.1953 r.

Lizozym jest polipeptydem o niskim ciężarze cząsteczkowym, działającym enzymatycznie (hydrolizująco) na pewne mukopolisacharydy. Właściwości i funkcje lizozymu z różnych względów zwróciły na siebie uwagę licznych badaczy.

Fakt, że bakterie pod wpływem lizozymu ulegają zabiciu, albo lizie, zwrócił uwagę na możliwość użycia tego związku jako czynnika przeciwbakteryjnego, tym bardziej że lizozym występuje w naturze często. Ponadto lizozym okazał się bardzo dogodnym obiektem studiów nad budową białek i czynnością enzymatyczną właśnie ze względu na swój niski ciężar cząsteczkowy, swą jednorodność i łatwość wyodrębniania w dużych ilościach w postaci krystalicznej. Badania wykonywano przeważnie na lizozymie z białka jaja i poniższe dane — jeśli tego nie zaznaczono — odnoszą się właśnie do tzw. „lizozymu izoelektrycznego", tj. wykrystalizowanego z białka jaja przy pH około 10.

PRZEGLĄD HISTORYCZNY

Łaszczenko (1909) stwierdził po raz pierwszy w białku jaja obecność substancji mogącej rozpuszczać pewne szczepy bakterii należących do grupy *subtilis*. Suzuki (1911) spostrzegł, że wyciągi z krwinek białych rozpuszczają zawiesiny różnych ziarenkowców wyosobnionych z powietrza. Bloomfield (1919) stwierdził, że ślina rozpuszcza różne gatunki *Sarcina*.

Fleming (1922) substancję mającą właściwość rozpuszczania i powodowania lizy, nazwał „lizozymem". Wykazał on, że czynnik ten występuje w śluzie nosa, łzach, chrząstce, ślinie, białku jaja i w tkankach różnych narządów, jak serce, śledziona itp.

Fleming wyosobnił również szczep *Micrococcus lysodeicticus*, który szczególnie szybko ulega lizie pod wpływem lizozymu i opisał niektóre fizyczne i chemiczne właściwości tego enzymu, choć badacz ów nie wiedział wówczas na pewno, że ma do czynienia z pojedynczym enzymem.

Pierwsze pomyślne próby otrzymania stężonego enzymu zawdzięczamy Wolffowi (1927) i trzem badaczkom radzieckim (Jermołajewa,

Bujanowska i Kałuchnaja, 1933). Dalsze prace nad oczyszczaniem enzymu wykonał Roberts (1937) oraz Meyer, Thompson, Palmer i Khorazo (1936). Pierwszy opisany sposób krystalizacji enzymu okazał się w świetle późniejszych badań sposobem niezadowalającym (Abraham i Robinson, 1937; Abraham, 1939). Właściwe metody krystalizacji opisano w 1945 r. (Alderton, Ward i Fevold) i w 1946 (Alderton i Fevold). Wielu badaczy dokonało przeglądu rozległych badań nad lizozymem (Jermołajewa i Bujanowska, 1936, 1938; Jermołajewa, 1938; Mesrobeanu i Noeppel, 1938; Thompson, 1940, 1941; Hartsell, 1948; Fromageot 1948; Fevold 1951).

WYSTĘPOWANIE

Obecność lizozymu stwierdzono w wielu ustrojach zwierzęcych i roślinnych (patrz ustęp pt.: „Czynność"), choć nie zawsze w tych samych tkankach u różnych gatunków. W najwyższym stężeniu (2,6%) występuje lizozym prawdopodobnie w białku jaja, chociaż, jak można sądzić na podstawie pomiarów czynności, stężenie lizozymu w łzach może nie jest niższe.

Kriss (1940) stwierdził obecność lizozymu u niektórych bakterii i pleśni, a Thompson (1940) wykazał, że istnieje on nawet u szczepów bakterii wrażliwych na jego działanie.

Krasilnikow i Koreniako (1939) donieśli o wyosobnieniu enzymu mającego podobną aktywność z *Actinomyces*.

OTRZYMYWANIE

Dwie podstawowe metody otrzymywania enzymu z białka jaja zawdzięczamy Aldertonowi, Wardowi i Fevoldowi (1945) oraz Aldertonowi i Fevoldowi (1946).

Pierwsza z tych metod korzysta z właściwości lizozymu stwierdzonej przez Fleminga (1922), Wolffa (1927) oraz Jermołajewą i Bujanowską (1936); mianowicie wykazali oni, że enzym ten jest silnie adsorbowany przez wiele substancji.

Do 1 l białka kurzego dodajemy 150 ml zawiesiny bentonitu (10% w 1%-owym roztworze KCl). Całość silnie mieszamy, zwracając uwagę by płyn się nie pienił. Adsorbent zatrzymuje lizozym i nieaktywne białka. Te ostatnie usuwamy przez przemywanie trzykrotne trzema świeżymi porcjami po 300 ml 5% wodnego roztworu pirydyny. Następnie eluujemy lizozym przemywając adsorbent dwukrotnie porcjami 300 ml 5% wodnego roztworu pirydyny, którego pH uprzednio doprowadzono kwasem siarkowym do 5,0 Pomiary pH wykonywać należy dokładnie (elektrodą szklaną). Już przy pH 4, lub 6 enzym nie ulega elucji. Lizozym zawarty w eluacie wyosobniamy przez strącenie, dodając siarczan amonu do końcowego stężenia 2,6 M, albo 75% alkohol lub też aceton.

Siarczan lub alkohol usuwamy następnie przez dializę, a roztwór liofilizujemy.

Możemy również poddać dializie bezpośrednio eluat dla usunięcia zeń pirydyny. Najpierw używamy wody wodociągowej, a potem destylowanej przez okres 24 godzin po zniknięciu zapachu pirydyny. Duża objętość otrzymanego po dializie roztworu wodnego (około 1 litra) utrudnia jednak liofilizację. Zmniejszenie objętości roztworu w worku dializacyjnym z 1,2 l do 225 ml w ciągu 24 godz. można osiągnąć wieszając worek przed wiatraczkiem elektrycznym.

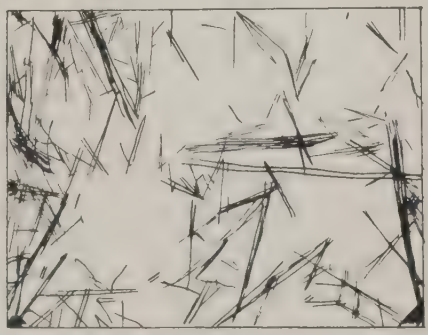
Lizozym możemy wykrystalizować przygotowując 5% roztwór, dodając doń 2% NaCl i doprowadzając pH za pomocą NaOH do 9,5 — 10,5. W tak przygotowanym roztworze w 4° powstają kryształy lizozymu. Jeśli dodamy zamiast NaCl 5% dwuwęglanu sodu otrzymujemy końcowe pH około 8,5, a kryształy węglanu lizozymu wydzielają się już w temperaturze pokojowej.

Druga metoda, prostsza i częściej używana, przedstawia się następująco:

Białko jaja uwalniamy od chalazy (autor niniejszego artykułu uważa to za zbędne), homogenizujemy przy użyciu mieszadła magnetycznego, w miarę możności unikając pienienia. Homogenat doprowadzamy do pH 9,5 po czym dodajemy NaCl do końcowego stężenia 5%. Roztwór „zaszczepiamy" następnie kilkoma kryształkami enzymu i umieszczamy w chłodni w 4° gdzie enzym w ciągu 2—4 dni krystalizuje (na pięć przypadków, w których stosowano tę metodę, autorowi udało się cztery razy wykrystalizować enzym bez uprzedniego zaszczepiania).

Preparat rekrystalizujemy odwirowując go, usuwając płyn znad osadu i zwilżając kryształki w kilku ml H_2O (jeśli do preparatyki użyto 10—12 średniej wielkości jaj, używamy około 20—25 ml H_2O). Do zawiesiny tej dodajemy kroplami 10% kwas octowy, aż do otrzymania pH 4, po czym części nierozpuszczone odwirowujemy. Następnie doprowadzamy pH roztworu do 9,0 — 9,5 przy pomocy 0,1 NaOH i dodajemy 5% NaCl. Krystalizacja występuje niemal natychmiast. W ciągu dnia wykonać można kilka rekrystalizacji.

Rys. 1



Rys.2

Lizozym krystalizuje w dwóch zakresach pH: między 3 i 5 oraz między 8 i 11. W środowisku kwaśnym otrzymujemy dwupiramidy tetragonalne (J o n e s, 1946; rys. 1), natomiast w środowisku zasadowym igły ortorombowe (A l d e r t o n i F e v o l d, 1946). Jeśli przyjmiemy, że ciężar cząsteczkowy enzymu wynosi 15 000 (por. niżej), wtedy należy przyjąć zawartość chlorków w kryształach utworzonych w zakresie kwaśnym za równą 3,24%, co odpowiada 15—16 związanym grupom zasadowym. Natomiast w przypadku kryształów utworzonych w środowisku zasadowym (pH = 8,2) z HCl wiąże się jedynie 9—10 grup zasadowych (A l d e r t o n i F e v o l d, 1946).

Najprawdopodobniej wolne grupy zasadowe określają postać kryształu utworzonego przy wyższym pH i postać ta przypomina postać kryształu

izoelektrycznego, zaś kryształy utworzone przy niższym pH są kryształami chlorku lizozymu. Krystaliczny jodowodorek lizozymu, azotan lizozymu lub węglan lizozymu można otrzymać rozpuszczając bezkształtny lizozym w odpowiednim kwasie i dodając sól tego kwasu. Fraenkel-Conrat (1950) otrzymał acetylową pochodną lizozymu w postaci krystalicznej, przy czym kryształy osiągały 2 mm długości.

Z badań Tallana i Steina (1951) wynika, że lizozym izoelektryczny przygotowany przez dodanie NaCl przy pH 9,5 jest najbardziej jednorodną i stałą postacią enzymu.

USTROJE WRAŻLIWE NA DZIAŁANIE LIZOZYMU

Fleming (1922), Wolff (1927), Woodruff i Waksman (1942), Kriss (1940) i inni zestawiali listy różnych drobnoustrojów wrażliwych na działanie lizozymu. Herbert (1951) zbadał ostatnio wrażliwość poszczególnych szczepów różnych gatunków laseczek i otrzymał następujące wyniki:

Gatunek	Ilość szczepów	
	zbadanych	odpornych
B. alvei	6	6
B. anthracis	13	13
B. cereus	24	24
B. circulans	8	8
B. mycoides	7	7
B. brevis	8	0
B. licheniformis	6	0
B. macerans	4	0
B. orpheus	4	0
B. pumilus	14	0
B. subtilis	30	0
B. coagulans	10	8
B. fusiformis	15	2
B. polymyxa	8	1
B. megatherium	18	6

Na ogół wrażliwość na działanie lizozymu spotykamy najczęściej u rodzaju *Micrococcus, Sarcina* i *Bacillus.*

Z ziarniaków najwrażliwszy jest *Micrococcus lysodeicticus,* a z pakietowców *Sarcina lutea.* Militzer, Sonderegger, Tuttle i Georgi (1949) stwierdzili, że pewien niezidentyfikowany szczep termofilny (temp. optymalna wzrostu 65°) był wrażliwy na działanie lizozymu.

Klemparska (1949) podzieliła drobnoustroje wrażliwe na działanie lizozymu na dwie grupy. Pierwsza grupa obejmowała te, które pod wpływem działania lizozymu ulegają lizie, druga — drobnoustroje ulegające pod wpływem lizozymu skłaczeniu. Autorka ta twierdzi, że różnice w zachowaniu drobnoustrojów polegają na różnicach ich budowy koloidalnej. Lizozym działa zarówno na żywe, jak i na martwe mikroorganizmy. Niektóre drobnoustroje zabija bez powodowania dostrzegalnej lizy, np. pewne szczepy *B. megatherium* (Pirie, 1940) i *B. subtilis* (Epstein i Chain, 1940).

Ci ostatni badacze wykazali, że swoistym substratem lizozymu jest mukopolisacharyd znajdujący się w ściankach komórek bakteryjnych wrażliwych na działanie tego enzymu. Brak go natomiast u drobnoustrojów niewrażliwych na działanie lizozymu. Wniosek: niewrażliwość na lizozym polega na nieobecności swoistego substratu w ustroju niewrażliwym.

Wniosek taki jednak nie wydaje się należycie uzasadniony, szczególnie w świetle interesujących spostrzeżeń Webba (1948), który stwierdził, że *St. aureus, St. albus, Str. faecalis* i *Clostridium welchi* — ustroje na lizozym niewrażliwe — stają się podatne na działanie tego enzymu po ogrzaniu ich do 80°. Califano (1950) wykazał następnie, że wrażliwość na lizozym u pewnych wrażliwych drobnoustrojów po ogrzaniu wzrasta.

MECHANIZM DZIAŁANIA LIZOZYMU

Najbardziej naocznym wskaźnikiem działania lizozymu na drobnoustrój, wskaźnikiem, który posłużył do odkrycia tego enzymu, jest zdolność uczynienia zawiesiny bakteryjnej przezroczystą.

Boasson (1938), który przebadał przebieg lizy pod mikroskopem twierdzi, że lizozym przekształca błonę komórkową *M. lysodeicticus* w ten sposób, iż staje się ona przepuszczalną i zawartość komórki dyfunduje do środowiska.

Nie należy przypuszczać jednak, że mechanizm działania lizozymu na wszystkie wrażliwe nań drobnoustroje jest jednakowy. Zresztą wspomniano już o tym wyżej. Kern, Kingkade, Kern i Behrens (1951) zajmowali się działaniem lizozymu na *M. lysodeicticus i St. aureus* K_1 przy pomocy mikroskopu elektronowego.

W przypadku *M. lysodeicticus* badacze ci stwierdzili najpierw napęcznienie komórki, potem pęknięcie ścianki, rozproszenie treści komórkowej, a w końcu zniszczenie błony komórkowej.

Gronkowiec okazał się natomiast mniej wrażliwy na lizozym. Nie stwierdzono pękania ścianki komórek, natomiast spostrzeżono powolne, trwające ponad kilka godzin, rozpuszczanie zewnętrznej warstwy komórki. Wewnętrzna gęsta treść komórki pozostała bez zmiany.

Potwierdzeniem spostrzeżeń Kerna i współpracowników nad *M. lysodeicticus* były obserwacje Saltona (1952), który wyosobnił błony komórek bakteryjnych i stwierdził, że lizozym je całkowicie depolimeryzował. Nie ma prawdopodobnie rozbieżności między tymi wynikami i wynikami otrzymanymi przez Boasson (1938), który przypuszczalnie procesu lizy nie obserwował dość długo, by móc stwierdzić całkowitą destrukcję błony.

Hallauer (1929) przypuszczał, że lizozym działa na część śluzowatą błony bakteryjnej. Następnie Meyer, Thompson, Palmer i Khorazo (1936) wykazali, że działaniu lizozymu na wrażliwe bakterie i na mukoidy wyekstrahowane z tych bakterii towarzyszy pojawianie się cukrów redukujących. W wyniku działania lizozymu na zawiesinę bakteryjną uwalniany jest azot niebiałkowy i nieorganiczny fosfór — pochodzące z wnętrza komórek. Pirie (1940) oraz Epstein i Chain (1940) potwierdzili te rezultaty. Ci ostatni wyosobnili z *M. lysodeicticus* wielocukrowiec nierozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych, roztwarzający się słabo w wodzie i dający bardzo lepki roztwór. Wielocukrowiec ten nie ulega dializie i daje wyraźny odczyn Molischa. Pod wpływem lizozymu połowa ilości wielocukrowca, zawierająca grupy = CO i N-acetyloheksozaminę, poczyna przechodzić przez błonę dializacyjną. Meyer i Hahnel (1946) udoskonalili metodę ekstrakcji wielocukrowca i wykazali, że szybkość zmniejszania lepkości jego roztworu wodnego może być użyta jako miara czynności enzymatycznej lizozymu.

Hawthorne (1950 a) stwierdził, że powstające po lizie *M. lysodeicticus* substancje, ulegające dializie, składają się głównie ze związków reagujących z ninhydryną. Po usunięciu tych związków nie można już znaleźć cukrowców we frakcji obojętnej, hydroliza natomiast daje glukozę i mannozę oraz przypuszczalnie glukozaminę i kwas glukuronowy.

Caselli w 1943 spostrzegł wzrost lepkości zawiesiny bakteryjnej po lizie. Badacz ten stwierdził również, że po tym wzroście następowało zmniejszenie lepkości wywołane prawdopodobnie hydrolizą uwolnionych mukopolisacharydów. Cutanelli (1949) zaobserwował, że pewne szczepy pneumokoków nie wykazują pod wpływem lizozymu wzrostu lepkości, choć badanie mikroskopowe wykazywało zmiany morfologiczne komórek bakteryjnych.

Herbert i Pinsent (1948) poczynili interesujące obserwacje nad działaniem lizozymu na bardzo gęste zawiesiny *M. lysodeicticus*. Zawiesiny od 1 do 8% są koloru kanarkowego i nieprzezroczyste. W czasie lizy stają się one zielonkawo-żółte i bardzo lepkie. Zawiesina 1% uzyskuje konsystencję białka jaja, zawiesina 8% jest pół-stałym żelem, którego nie można pipetować, ani wylać z probówki.

Feiner, Meyer i Steinberg (1946) wykazali, że będący substratem lizozymu muko-wielocukrowiec wyosobniony z *M. lysodeicticus* ma słabe właściwości antygenowe i powoduje powstawanie przeciwciał strącających substrat, a także aglutynin. Stwierdzono, że substancje wyosobnione z *M. lysodeicticus* i *S. lutea* są pod względem immunologicznym bardzo do siebie zbliżone. (Nawet zdepolimeryzowany substrat lizozymu ma zdolność wiązania przeciwciała). Prócz tego wykazano, że lizozym ma właściwość atakowania ustroju nań wrażliwego lub substratu, wtedy gdy są one związane z przeciwciałem.

Sam lizozym ma również własności antygenu (Wetter i Deutsch, 1951).

Dorfman, Mołdarska, Kastorska i Zasypkina (1945) podczas badań nad własnościami fizykochemicznymi czynników bakteriostatycznych i bakteriolitycznych wykazali, że lizozym, podobnie zresztą jak i fagi czy antybiotyki, wywołuje wzrost potencjału powierzchniowego wraż-

liwych nań bakterii już we wstępnym okresie działania. Efekt ten w przypadku lizozymu maleje z upływem czasu, gdy tymczasem — efekt czynników bakteriostatycznych pozostaje stały.

Jeśli podziałamy lizozymem na napęczniałą owomucynę powstaje zbity precypitat zawierający mucynę i lizozym (Hawthorne, 1950 b). Nie usiłowano dotychczas wyjaśnić istoty tej reakcji.

DZIAŁANIE LIZOZYMU A BARWIENIE METODĄ GRAMA

Zestawienie bakterii wrażliwych na działanie lizozymu pozwala na ujawnienie interesującego faktu: drobnoustroje gram-ujemne zazwyczaj nie ulegają działaniu tego enzymu w przeciwieństwie do podatnych nań gram-dodatnich. Lizie wrażliwych komórek bakteryjnych towarzyszy zmiana odczynu Grama z dodatniego na ujemny, co nie powinno nas dziwić, jeśli się zważy, że liza pociąga za sobą częściowe lub całkowite zniszczenie błony bakteryjnej oraz dyfuzję substancji cytoplazmatycznych do środowiska, a więc zniszczenie struktury komórki.

Webb (1948) natomiast stwierdził znamienny fakt, że chorobotwórcze, gram-dodatnie mikroorganizmy zabite działaniem ciepła są również wrażliwe na działanie lizozymu. W niektórych przypadkach proces lizy tych komórek bakteryjnych był na tyle wolny, że udało się wykazać, iż odczyn wg Grama u bakterii zmienia się z dodatniego na ujemny o wiele wcześniej, niż pojawia się liza.

Wiemy, że różne komórki zawierają wielocukrowce różniące się od siebie pod względem budowy chemicznej. Dla wytłumaczenia stwierdzonych prawidłowości należy zatem przyjąć, że lizozym hydrolizuje jakieś wiązanie wspólne wszystkim wrażliwym nań bakteriom albo rozszczepia jakąś więź między wielocukrowcami a kwasami nukleinowymi, czy białkami biorącymi udział w tworzeniu kompleksu charakterystycznego dla gram-dodatnich bakterii (Henry i Stacey, 1946). Wynika z tego również, że mukowielocukrowiec tworzy jeden ze składników kompleksu związanego z gram-dodatniością oraz że kompleks ten umieszczony jest na powierzchni komórki bakteryjnej.

Epstein i Chain (1940) pragnąc wyjaśnić to, iż z niezmienionych komórek *M. lysodeicticus* nie udało się im wyekstrahować muko-wielocukrowca ani przy pomocy podchlorynu, ani formamidu, założyli, że w komórkach bakteryjnych istnieje druga, wewnętrzna warstwa tego związku wielocząsteczkowca.

To samo przypuszczenie wypowiedział w 1948 Webb.

Califano (1950) zakładał obecność warstwy kwasów nukleinowych między dwiema warstwami mukoidu. Założenie to wyprowadzał ów badacz ze spostrzeżeń, iż pewne, wrażliwe na lizozym szczepy bakteryjne wykazują po ogrzaniu zwiększoną wrażliwość oraz, iż w czasie ogrzewania stwierdza się (Webb 1948, Califano 1949) zmniejszenie zawartości kwasów nukleinowych w komórce bakteryjnej. Przy podniesieniu ciepłoty, kwasy nukleinowe miałyby się uwalniać i odsłaniać na działanie lizozymu wewnętrzną warstwę mukoidu (Califano, 1952). Tłumaczenie takie zdaje się jednak zbytnim uproszczeniem faktów; Webb zabijał bakterie w warunkach, które wyłączały nawet nieznaczne straty kwasu nukleinowe-

go z komórek, a mimo to dwie postulowane warstwy wielocukrowca *M. lysodeicticus* uległy depolimeryzacji pod wpływem lizozymu bez uprzedniego ogrzewania bakterii. Dalsze badania nad działaniem lizozymu na zabite ciepłem komórki zasługują jednak na jak największą uwagę, gdyż liczne drobnoustroje chorobotwórcze stają się po zadziałaniu ciepła wrażliwe na działanie lizozymu.

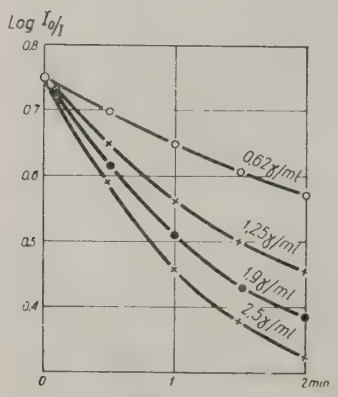
OZNACZANIE AKTYWNOŚCI ENZYMATYCZNEJ

Stosowane są trzy zasadnicze metody w celu określania aktywności lizozymu: a) mierzenie stopnia przejaśnienia zawiesin bakterii wrażliwych, b) oznaczanie stopnia spadku lepkości wodnego roztworu mukopolisacharydu, wyekstrahowanego z otoczek drobnoustrojów wrażliwych i c) oznaczanie w roztworze powstającego z mukopolisacharydu cukru redukującego. Pierwsza z tych metod jest najprostsza.

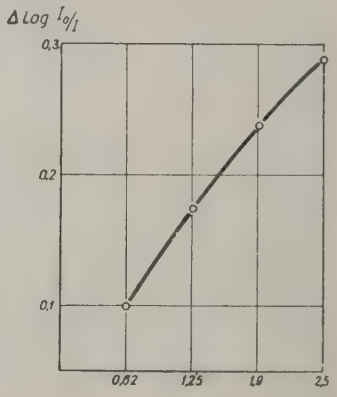
a) Mierzenie stopnia przejaśnienia używane było przez tak wielu autorów, że ograniczone ramy referatu nie pozwalają na ich podanie. Istota metody polega na sporządzeniu zawiesiny. Zwykle używa się zawiesin *M. lysodeicticus* lub *S. lutea* i oznacza czas potrzebny do zmniejszenia gęstości zawiesiny do określonego stopnia. Dokładność tych metod jest raczej bardzo mała, w najlepszym razie wynosi około 10%.

Metoda szybka, stosowana przez autora, wymagająca jednak odpowiedniej kontroli temperatury, opierająca się na oznaczaniu początkowego stopnia przejaśnienia w sposób ciągły, podaje wyniki z dokładnością 2% (Shugar 1952 a).

3 ml zawiesiny *M. lysodeicticus* umieszcza się w kiuwecie kolorymetrycznej lub spektrofotometrycznej. Gęstość optyczna zawiesiny o pH około 7 powinna wynosić od 0,6 do 0.8. Następnie dodaje się 20 do 50 mm³ roztworu lizozymu o odpowiednim stężeniu,



Rys. 3



Rys. 4

zawartość szybko miesza się i odczytuje gęstość optyczną w ciągu 2 minut w odstępach ½ lub 1 minutowych. Rysunek 3 wskazuje jak zmniejsza się gęstość optyczna zawiesiny w czasie zależnie od różnych stężeń enzymu; po wyznaczeniu w układzie współrzędnych

odczytów gęstości optycznej dokonanych po 1 min. w zależności od stężenia enzymu uzyskuje się krzywą podaną na rysunku 4. Przy użyciu spektrofotometru Beckmana, który ma miejsce na cztery kiuwety, można przeprowadzić jednocześnie 4 oznaczenia w ciągu 5 minut. Konieczne jest jednak urządzenie do kontrolowania temperatury wstawki na kiuwety i pomieszczenia.

Drugą metodę opisali Meyer i Hahnel (1946).

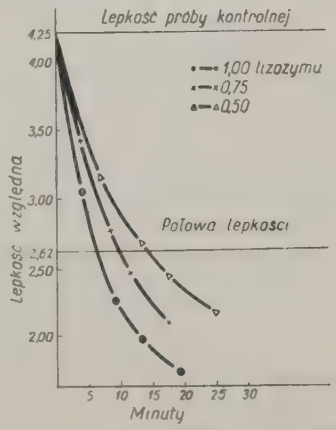
M. lysodeiticus hoduje się przez 24 do 48 godzin we flaszkach Roux na pożywce agarowej z 0,5% glukozy i 0,1% wyciągu drożdżowego. Komórki zmywa się z agaru wodą destylowaną i sączy przez watę szklaną, ażeby oddzielić je od agaru. Zawiesinę bakteryjną przenosi się do 5 objętości oziębionego do temperatury 0° acetonu i pozostawia na 24 godziny. Komórki wiruje się, przemywa acetonem, następnie eterem i suszy w próżni. 10 do 15 g suchych komórek rozciera się następnie w moździerzu z 200 ml 0,5 N NaOH i powstałą pastę umieszcza się na 7 do 8 dni w eksykatorze, w atmosferze azotu, w temperaturze 25°. Po upływie tego czasu dodaje się do komórek 200 ml wody i wiruje. Komórki przemywa się powtórnie wodą, wiruje, rozciera po raz drugi z 200 ml 0,5 N NaOH i pozostawia w atmosferze azotu przez 14 dni.

Powstałą lepką ciecz rozcieńcza się 200 ml wody i wiruje. Alkaliczny płyn znad osadu zakwasza się kwasem octowym do pH około 4, i przenosi do 2 objętości alkoholu. Powstały włóknisty osad odwirowuje się i przemywa kilkakrotnie 80% alkoholem. Mokrą substancję umieszcza się w 200 ml 10% roztworu octanu sodowego, rozcieńcza 200 ml wody, silnie wytrząsa przez godzinę z 80 ml mieszaniny chloroformu z alkoholem amylowym i wiruje. Do mętnego płynu znad osadu dodaje się 40 ml 10% roztworu octanu cynkowego i doprowadza pH do około 7, ażeby strącić wodorotlenek cynkowy. Wówczas całość wiruje się, czysty płyn znad osadu doprowadza do pH 4 i strąca osad przez przeniesienie do 2 objętości alkoholu. Osad odwirowuje się, przemywa kilkakrotnie w moździerzu 80% alkoholem, następnie 95% alkoholem i alkoholem absolutnym, wreszcie eterem. Osad suszy się nad P_2O_5 w próżni. W jednej z serii autor otrzymał wydajność 1,8 g z 9,5 g suchych bakterii.

Do mierzenia aktywności enzymatycznej sporządza się roztwór zawierający 4 mg/ml wielocukrowca w buforze Mellwsina, zawierającym 0,2 N NaCl.

W czasie przechowywania w temp. 0° lepkość takiego roztworu nie zmienia się przez 24 godziny lub dłużej.

Mały spadek lepkości, obserwowany przy 37°, jest nieznaczny w porównaniu z tym, który może być spowodowany przez enzym w odpowiedniej koncentracji. Pięć ml roztworu wprowadza się do dolnego rozszerzenia wiskozymetru Ostwalda (takich wymiarów, ażeby czas przepływu równej objętości 0,9% NaCl wynosił około 60 — 70 sekund) i umieszcza się na łaźni przy 37°. Po kilku minutach, potrzebnych do wyrównania temperatury, dodaje się 1 ml. roztworu lizozymu (zawierającego 0,25 — 1,5 mg lizozymu/ml) i kilkakrotnie oznacza się czas przepływu jako funkcję czasu. Około 0,75 ml lizozymu zmniejsza lepkość względną o 50% w ciągu



Rys. 5

10 minut i ta wielkość określona została przez Meyera i Hahnela (1946) jako jednostka lizozymu. Rysunek 5, według Meyera i Hahnela (1946), pokazuje szybkość spadku lepkości przy różnych stężeniach lizozymu. Czas potrzebny do zmniejszenia lepkości o 50% jest mniej więcej proporcjonalny do koncentracji enzymu; dokładność metody wynosi około 5%.

c) Meyer i Hahnel (1946) donieśli, że inkubacja roztworu, zawierającego 5 mg/ml wielocukru oraz 0,04 do 0,1 mg/ml lizozymu prowadzi do przemiany około 10% mukopolisacharydu w cukier redukujący, wyrażony w równoważnikach glukozy. Mniej więcej połowa tej ilości jest acetyloglukozaminą. Jednak metoda ta, mimo że wygląda obiecująco, zwłaszcza ze względu na opracowanie nowych mikrometod oznaczania cukrów redukujących, dotychczas nie znalazła zastosowania do ilościowego oznaczania aktywności lizozymu. Hawthorne (1950 a) oznaczał powstawanie cukrów redukujących bezpośrednio w gęstych zawiesinach bakterii.

Inne metody: Watter i Deutsch (1951) zastosowali surowicę odpornościową królika dla oznaczania lizozymu w białku jaja.

Wartość porównawcza różnych metod: Meyer i Hahnel (1946) i Regan (1950) uważają, że najbardziej dokładną metodą jest oznaczanie spadku lepkości substratu, pod warunkiem stosowania oczyszczonego substratu. Przy użyciu całych komórek bakteryjnych pewną rolę mogą dgrywać inne komplikujące czynniki, jak wpływ uwolnionej do środowiska zawartości komórek oraz złożona istota procesu lizy bakteryjnej. Trudno jednak uznać zastrzeżenia powyższe za uzasadnione. Stopień czystości substratu jest czynnikiem nieznanym. Jeśli wykreślimy krzywą kalibracyjną, wykazującą zależność czynności enzymatycznej od koncentracji, to teoretycznie obie metody powinny dawać podobne wyniki. Bezpośrednie pomiary lizy bakteryjnej, jak wyżej wspomniano, są wobec tego najprostszą metodą i mogą być wykonane z większą dokładnością. Komplikacje mogą powstać przy zastosowaniu tej metody do określania stężenia lizozymu w wyciągach tkankowych, wskutek wpływu różnych jonów na czynność enzymatyczną lizozymu (por. niżej).

Skontrolowanie większości używanych metod turbidimetrycznych wykazuje, że jednym z najważniejszych źródeł błędu w przeszłości był dobór okresu czasu, po którym mierzono stopień lizy. Jak widać z ryciny 3 początkowo spadek zmętnienia nie różni się od przebiegu liniowego; po kilku minutach proces ulega stopniowemu zwolnieniu. Pomiary wykonane w tym okresie zawierałyby znaczny błąd. Niemniej jednak niektórzy badacze używali nawet czasu potrzebnego dla „pełnej" lizy jako miary aktywności — sposób oczywiście niedopuszczalny.

Drugim źródłem błędów jest metoda przygotowania zawiesiny bakteryjnej. Opracowano rozmaite sposoby przygotowania zawiesin bakterii, które można by używać w miarę potrzeby i które miały oddziaływać zawsze jednakowo. Większość tych metod polega na zabiciu bakterii takimi czynnikami, jak aldehyd mrówkowy (Boasson 1938) lub promienie pozafiołkowe (Smolelis i Hartsell 1949), po czym przechowuje się je w postaci zawiesiny w chłodni lub liofilizuje się i następnie zawiesza ponownie w wodzie przed doświadczeniem. Jednak już pobieżny przegląd pi-

śmiennictwa wykazuje, że sposobu używanego przez jednego autora często nie udaje się odtworzyć innemu autorowi.

Wrażliwość bakterii na lizozym zmienia się również w zależności od wieku hodowli lub od metody użytej do zabicia komórek. Technika stosowana przez autora polegała na hodowli szczepu na skośnym agarze w pewnej ilości probówek w ciągu 26 — 48 godzin. Następnie przechowuje się je w chłodni i używa się w miarę potrzeby w okresie kilku dni. Dla każdej przygotowanej w ten sposób świeżej zawiesiny wykonuje się zupełnie nową krzywą kalibracyjną przy użyciu znanych stężeń lizozymu.

Ulepszenie metod oznaczania lizozymu i metod jego badania zależy od pomiaru jego aktywności na lepiej oczyszczonym substracie; do oznaczania pojawiających się cukrów redukujących najlepiej stosować którąś z metod kolorymetrycznych.

WPŁYW PH

Optymalnym pH dla przebiegu bakteriolizy jest okolica punktu neutralnego. Hallauer (1929) jako wartość optymalną podaje 7,2; Jermołajewa i Bujanowska (1931) — 7,4; Boasson (1938) — 6,2; Thompson (1940) — 6,0—6,5; Smolelis i Hartsell (1952) — 8,6; Dickman i Proctor (1952) — 6,0—6,5 przy użyciu jako buforu 0,1 M roztworu octanu lub fosforanu. Ci ostatni badacze stwierdzają, że na szybkość lizy w sposób wyraźny wpływa zarówno skład roztworu buforowego, jak i jego molarność; na przykład użycie 0,025 M roztworu cytrynianu sodu dało ten sam wynik, co i zastosowanie 0,1 M roztworu octanu lub fosforanu, ale podniesienie molarności buforu cytrynianowego do wartości 0,1 dało przy pH 6 dwukrotne podwyższenie aktywności enzymu i zupełną modyfikację krzywej w układzie pH — aktywność. Większość badaczy twierdzi, że wskutek nierozpuszczania się w kwasie zdepolimeryzowanej błony komórkowej wyraźna liza zachodzi wyłącznie w środowisku obojętnym lub alkalicznym. Dlatego w celu zbadania bakteriolizy w środowisku kwaśnym należy po przebiegu reakcji w ciągu określonego czasu dodać kroplę stężonego ługu, która spowoduje natychmiastowe sklarowanie roztworu. Jednakże Smolelis i Hartsell (1952) używając zabitych ultrafioletem, zliofilizowanych organizmów, które uwodniono przed doświadczeniem, stwierdzili, że w środowisku kwaśnym liza również zachodzi. Autor niniejszej pracy również zaobserwował (wyniki nieopublikowane) zupełnie wyraźną lizę nawet przy pH 4,7.

Optimum pH dla aktywności lizozymu na substracie oczyszczonym, mierzone spadkiem lepkości, znajduje się przy pH 5,5 i jest niemal stałe w zakresie od 4 do 7 (Meyer i Hahnel 1946). Dla szybkości pojawienia się cukrów redukujących optimum pH znajduje się około 5, a po obu stronach tej wartości szybkość ta gwałtownie spada. Optymalną wartością pH dla działania lizozymu wyekstrahowanego z roślin (*Ficus*), mierzoną spadkiem lepkości, jest wartość około 5,5 (Meyer, Hahnel i Steinberg 1946).

Jest faktem ogólnie znanym, że pH środowiska wywiera znaczny wpływ zarówno na organizmy ulegające lizie pod wpływem lizozymu, jak i na sam lizozym.

Wpływ ten można jednak wyjaśnić jedynie na zasadzie badań przeprowadzonych na czystym substracie.

WPŁYW SOLI

Fleming (1929) zaobserwował, że zarówno duże stężenie, jak i nieobecność soli hamuje aktywność lityczną lizozymu.

Stężenie ok. 0,5% jest optymalne dla działania lizozymu, a w obecności samego buforu fosforanowego optimum stężenia leży w granicach od 0,02 0,05 M. Herbert i Pinsent (1948) stwierdzili, że liza nie zachodzi, gdy zadziałać dializowanym lizozymem na zdializowaną zawiesinę bakterii. Według danych Meyera i Hahnela (1946) obecność 0,2 M NaCl nie wpływa na szybkość powstania cukrów redukujących, jest jednak przyczyną zwiększania się szybkości spadku lepkości substratu. Dickman i Proctor (1952) dowiedli, że przebieg lizy *S. lutea* jest podobny przy 0,2 M i 0,1 M stężeniu NaCl; 0,5 M roztwór NaCl wywołał 50% zahamowanie procesu litycznego, a 1,0 M NaCl dał zahamowanie procesu w około 90%. Potraktowanie chlorkiem sodu lizozymu lub bakterii nie wpływa na przebieg czynności litycznej. Dane te potwierdzają tylko to, co już stwierdzono powyżej odnośnie pH, a mianowicie, że skład środowiska wywiera wpływ na wzajemne działanie lizozymu i komórki. Z tego właśnie powodu trudno wyjaśnić w sposób wystarczający przyczynę hamowania i aktywacji czynności lizozymu, stwierdzonych przez wielu badaczy. Na przykład Nihoul (1951) podaje, że działanie lizozymu ulega zahamowaniu pod wpływem jonów np. Na^{+}, Ca^{++}, Sr^{++}, Ur^{++}, Th^{++}. Singer i inni (1951) podają, że lizozym jest niezmiernie wrażliwy na sześciowartościowe jony uranu. Dzieje się to, ich zdaniem, skutkiem powstawania związku kompleksowego z kwasem asparaginowym, znajdującym się rzekomo w lizozymie. Przypuszczenie to nie jest jednak zgodne z analizą aminokwasową enzymu (patrz niżej). W dalszym ciągu autorzy stwierdzają, że fosforan i adenozynotrójfosforan mogą chronić enzym przed działaniem hamującym uranu, nie mogą mu jednak całkowicie zapobiec.

Działanie stymulujące aktywność lityczną enzymu wywołują jony Mn^{++} (Gorini i Felix 1952) i kazeina (Paikina 1942).

Z powyższych danych można wyciągnąć wniosek, który już poprzednio sformułowano, a mianowicie, że bez względu na zastosowaną do pomiaru metodę, obecność soli wywiera znaczny wpływ na oznaczanie pochodzącego ze świeżych tkanek lizozymu.

WPŁYW TEMPERATURY

Dotychczas nie przeprowadzono jeszcze systematycznych badań nad wpływem temperatury na lizozym. Stwierdzono jedynie, że szybkość bakteriolizy wzrasta wraz z podwyższeniem temperatury do około 55 lub 60° (Fromageot, 1948). Współczynnik cieplny Q_{10} dla lizy zachodzącej powyżej 20—30° jest większy niż 3 (Shugar, 1952 a). Z uwagi na znaną stabilność cieplną enzymu, ciekawe byłoby przebadanie jego działania na organizmy termofilne o optimum wzrostu przy 65°, wrażliwe na działanie lizozymu (Militzer i in., 1949). Pomiary na bakteriach mezofilnych w temperaturze 65° ulegały komplikacji wskutek zmian zachodzących w komórce, wywołanych zabójczym działaniem temperatury na te organizmy.

WPŁYW CIŚNIENIA

Szybkość klarowania lizozymem zawiesiny bakteryjnej wzrasta pod wpływem ciśnienia hydrostatycznego w granicach 300 — 600 kg/cm² (Holyoke i Johnson 1951). Celem stwierdzenia, czy następuje to wskutek działania ciśnienia na enzym albo na organizm, czy też na obydwa razem, należałoby przeprowadzać szereg doświadczeń w różnych temperaturach. Również i w tym wypadku właściwsze byłoby badanie najpierw na oczyszczonym substracie.

KINETYKA REAKCJI

Tak ważne zagadnienie jak kinetyka procesu litycznego jest dotychczas wyjątkowo mało opracowane. Według Szabordina (1940) bakterioliza lizozymowa jest reakcją jednocząsteczkową. Szybkość lizy jest proporcjonalna do stężenia enzymu w zakresie około czterokrotnej wartości jego stężenia i zachodzi jako reakcja pierwszorzędna do momentu rozpuszczenia 60% organizmów, po czym szybkość jej spada (Holyoke i Johnson 1951, Shugar 1952 a). Zjawisko to może być wywołane działaniem hamującym uwolnionej podczas lizy zawartości komórek. Nie zaobserwowano natomiast wpływu na sam lizozym, który można odzyskać w całości przy końcu doświadczenia (Boasson, 1938).

STABILNOŚĆ, INAKTYWACJA, HAMOWANIE

Lizozym jest enzymem stabilnym, odpornym na działanie wielu czynników denaturujących. Przechowywany w temperaturze pokojowej w obojętnym lub kwaśnym środowisku zachowuje swoją aktywność w ciągu kilku miesięcy. Nie traci jej nawet wskutek wielodniowego dializowania z wodą destylowaną. Nawet przechowywany przy pH 12 w ciągu 24 godzin lizozym nie traci aktywności (Shugar, 1952 a). Alderton i Fevold (1946) podają, że w tych warunkach uzyskali w przeciągu 7 dni 60% spadek jego aktywności. Częstych w literaturze wzmianek niestabilności lizozymu w roztworach alkalicznych nie można brać poważnie.

Lizozym ulega słabej inaktywacji w wysokich temperaturach w środowisku alkalicznym, jednakże w środowisku kwaśnym jest o wiele trwalszy niż ribonukleaza, enzym o zbliżonym ciężarze cząsteczkowym. Ogrzewanie roztworu lizozymu do 100° przy pH 3 powoduje spadek jego aktywności wynoszący 9, 21 i 40% po upływie odpowiednio 10, 25 i 50 min. (Alderton i Fevold, 1946). Dokładniejsze badania działania temperatury na lizozym przeprowadzili dla zakresu 60—120° Smolelis i Hartsell (1952). Colvin (1952) wspomina o tworzeniu się koagulatu pod wpływem ogrzewania enzymu w temp. 100° w ciągu 1 godz. Inaktywacja cieplna enzymu jest zasadniczo nieodwracalna, jednak jony Mn^{++} wykazują w pewnym stopniu działanie reaktywujące (Gorini i Felix, 1952).

Inaktywacja lizozymu pod wpływem promieniowania ultrafioletowego zachodzi jako reakcja pierwszorzędowa z wydajnością kwantową 24×10^{-3}. Przy zmianach pH nie obserwuje się zmiany wydajności kwantowej, nawet przy wartości pH 12, w którym znacznie zwiększa się, skutkiem jonizacji grup fenolowych, adsorbcja enzymu (Shugar 1952 a). Podczas długotrwałego naświetlania, prowadzącego nawet do koagulacji enzymu, nigdy nie uwalniają się z niego wolne aminokwasy lub peptydy.

Naświetlanie promieniami widzialnymi w obecności riboflawiny prowadzi do inaktywacji pierwszorzędowej z wydajnością kwantową 6×10^3. Równocześnie reszty tryptofanowe w lizozymie ulegają zniszczeniu skutkiem fotooksydacji. Fakt, że ribonukleaza, enzym o tym samym ciężarze cząsteczkowym i podobnym stopniu stabilności, lecz nie zawierający tryptofanu, nie ulega zmianom w obecności riboflawiny, uważany był za dowód, iż fotooksydacja reszt tryptofanowych w lizozymie powoduje zniszczenie jego aktywności (Shugar, 1951 b). Fotooksydację lizozymu przez riboflawinę badał później Weil i in. (1952). Kwas ribonukleinowy, guma arabska i heparyna hamują lizę *M. lysodeicticus* (Nihoul, Massart i van Heel, 1951). Tego rodzaju działanie kwasu ribonukleinowego staje się zrozumiałe wobec faktu, że lizozym strąca się pod wpływem kwasu ribonukleinowego i dezoksyribonukleinowego (Klotz i Walker, 1948). Seria wstępnych doświadczeń (Shugar, 1951 a) wykazała, że hydroliza enzymatyczna kwasu ribonukleinowego nie zmienia jego własności strącania lizozymu, aż do momentu w którym kwas ribonukleinowy traci całkowitą zdolność strącania się pod wpływem kwasów.

Proces hamowania lizy za pomocą streptomycyny opisał Welsch (1951), następnie nad zagadnieniem tym pracował Nihoul (1951). Według Smolensa i Charneya (1947), również i przeciwciało wywołuje wpływ hamujący na aktywność lizozymu, nawet jeżeli występuje ono w postaci kompleksu antygen-przeciwciało (Wetter i Deutsch 1951). Moss i Martin (1948) przeprowadzali badania nad działaniem szeregu substancji hamujących. Lavrence i Klingel (1943) stwierdzili całkowitą inaktywację lizozymu w obecności kwasu sulfatiazolodwuazo-symetryczno-karbonido — 2 R.

W celu prawidłowej interpretacji podobnych zjawisk, należy w tego rodzaju badaniach zająć się depolimeryzacją i glukozydującą aktywnością lizozymu w stosunku do jego oczyszczonego substratu.

Alderton i Fevold (1946) wykazali, że lizozym jest odporny na hydrolizujące działanie trypsyny, papainy, słabych proteinaz oraz proteinaz bakteryjnych. W roztworze kwaśnym lizozym ulega powolnemu trawieniu przez pepsynę. W następstwie ogrzewania w środowisku kwaśnym, nie tracąc aktywności, staje się on bardziej podatny na działanie hydrolizujące, skutkiem czego w tych warunkach trypsyna może go zinaktywować w 65%. Jest niezmiernie interesujące, że pod wpływem ogrzewania zmienia się podatność enzymu na hydrolizę, ale jednocześnie nie zmniejsza się jego aktywność biologiczna. Fakt ten zasługuje na dalsze badania zwłaszcza wobec istnienia danych, że lizozym składa się z pojedynczego łańcucha peptydowego (patrz niżej). Ostatnio stwierdzono, że karboksy-peptydaza atakuje lizozym, powodując odszczepienie reszty od jego końcowego węgla (Thompson, 1952 a, 1952 b).

Według Goriniego i Felixa (1952) jony Mn^{++} hamują proteolizę lizozymu naturalnego w przeciwieństwie do zdenaturowanego przez ogrzewanie. Autorzy ci podają również, że lizozym jest podatny na działanie trypsyny, prawdopodobnie po uprzednim poddaniu go denaturacji przez ogrzewanie (to ostatnie stwierdzenie nie jest dość jasno sformułowane w streszczeniu ich doniesienia na 3 Międzynarodowym Kongresie Biochemicznym). Wpływ jonów Mn^{++} na podatność lizozymu na proteolizę, ak-

tywność lityczną i inaktywację wskutek ogrzewania, tłumaczy się wpływem tego jonu na równowagę między dwiema postaciami lizozymu w roztworze wodnym.

JEDNORODNOŚĆ (HOMOGENNOŚĆ) LIZOZYMU

Do niedawna uważano lizozym za białko w wysokim stopniu czyste i jednorodne. W ultrawirówce frakcja lizozymu oddziela się ostrą pojedynczą linią graniczną (Abraham 1939, Oncley i Brown, 1945; Wetter i Deutsch, 1951), a elektroforetycznie stwierdzono w niej obecność tylko jednego składnika. Alderton i in. (1945) stwierdzili, że lizozym jest identyczny z globuliną białka jaja kurzego nazwaną przez Longswortha, Canaana i Mc Innesa (1940) G_1 i scharakteryzowaną przez nich głównie na podstawie zachowania się podczas elektroforezy. Punkt izoelektryczny lizozymu, określony przy pomocy pomiarów elektroforetycznych i potwierdzony przez pomiary rozpuszczalności w zależności od pH (Fromageot i Schneck, 1946), wynosi około 10,5; niektórzy autorzy podają inne wartości, np. 11,35 (Wetter i Deutsch, 1951), 11,2 (Anderson i Alberty, 1948), 6,0 (Pasynski i Kastorska, 1945).

Anderson i in. (1945) oraz Anderson i Alberty (1948) stwierdzili elektroforetycznie obecność niewielkich ilości drugiego składnika w lizozymie. Thompson (1951) twierdzi, że wynik ten otrzymuje się skutkiem przedłużenia elektroforezy. Wetter i Deutsch (1951) na podstawie badań fizycznych i immunologicznych doszli do wniosku, iż lizozym nie jest substancją jednorodną. Wyniki badań Tallana i Steina (1951) są szczególnie interesujące: nieświeży, kilkakrotnie przekrystalizowany preparat węglanu lizozymu poddany chromatografii na kolumnie z I RC-50 rozdzielił się w niemal równej ilości na dwa składniki wykazujące aktywność lityczną. Świeżo przygotowany chlorek lizozymu składał się również z 2 substancji, z tym że jedna z nich zawierała prawie całą część białkową; przy tym wykryto niewielkie ilości innych białek białka jaja kurzego; ponowne kilkakrotne przekrystalizowanie nie wpłynęło na zmianę wyniku. Lizozym izoelektryczny po jednej lub dwu krystalizacjach wykazał obecność tylko dwu składników, przy czym jeden z nich zawierał 95% białka; przekształcenie go w węglan lizozymu nie zmieniło jego zachowania się podczas chromatografii. Jednakże suchy preparat węglanu lizozymu, który świeżo po przygotowaniu był jednorodny, po przechowywaniu przez 5 miesięcy w temperaturze pokojowej rozdzielił się na 2 składniki w prawie równej ilości. Lizozym izoelektryczny i chlorek lizozymu poddane działaniu tych samych warunków pozostały jednorodne. Do tej pory nie przeprowadzano identyfikacji ubocznych składników lizozymu.

SKŁAD LIZOZYMU

Składem aminokwasowym lizozymu zajmowały się dwie grupy badaczy: Lewis, Spell, Hirshman i Fraenkel-Conrat (1950) oraz Fromageot i de Garilhe (1950). Pierwsza grupa oznaczała aminokwasy metodami mikrobiologicznymi w hydrolizacie, druga uprzednio frakcjonowała aminokwasy za pomocą chromatografii. Wyniki otrzymane

tymi dwiema drogami są całkowicie zgodne. Dla izoelektrycznego lizozymu o całkowitej zawartości azotu 18,6% w suchym bezpopiołowym białku o ciężarze cząsteczkowym 14 700 otrzymano następujące wyniki:

Nazwa aminokwasu	Ilość aminokwasu na 100 g białka	Ilość reszt aminokwasów
alanina	5,9	10
arginina	12,7	11
kwas asparaginowy	17,9	20
cysteina	7,9	5
kwas glutaminowy	4,2	4
glicyna	5,6	11
histydyna	1,03	1
izoleucyna	5,2	6
leucyna	8,2	9
lizyna	5,8	6
metionina	2,0	2
fenyloalanina	3,0	3
prolina	1,4	2
seryna	6,9	10
treonina	5,3	7
tryptofan	10,4	8
tyrozyna	3,6	3
walina	4,6	6

Liczby te są średnią z wyników obydwu zespołów badaczy podane przez Fevolda (1951). Wyniki Lewisa i in. (1950) wskazują na obecność 8 reszt leucynowych w cząsteczce lizozymu, a badanie Fromageota i de Garilhe'a (1950) na 18 reszt kwasu asparaginowego zamiast 20, jak podano w tabeli. Początkową rozbieżność zdań odnośnie ilości reszt lizynowych usunięto przez przyjęcie liczby 6 (Monier, Gendron, Jutisz i Fromageot, 1952).

Zawartość azotu obliczona z ilości reszt aminokwasowych na podstawie przytoczonych w tabeli liczb wynosi 18,9%, a nie 18,6% jak stwierdzono doświadczalnie. Analogicznie zawartość siarki wynosi 2,62%, podczas gdy określona doświadczalnie 2,53%.

Obydwie grupy badaczy stwierdziły, że w lizozymie cysteina nie występuje, a grup sulfhydrylowych nie można wykryć zarówno w pierwotnej cząsteczce, jak i w lizozymie potraktowanym mocznikiem lub guanidyną (Fraenkel-Conrat, 1950).

Dane analityczne dla lizyny, histydyny i argininy wskazują na obecność około 19 grup zasadowych w cząsteczce lizozymu, a z analogicznych da-

nych dla kwasu asparaginowego i glutaminowego wynika, że w cząsteczce lizozymu znajduje się około 22 niepeptydowych grup karboksylowych. Jednakże, skutkiem obecności 18 — 19 moli azotu amidowego niewiele jest wolnych grup karboksylowych. Wynikający stąd stosunek ilości grup kwasowych do zasadowych jest więc zgodny z podstawowymi danymi charakterystycznymi lizozymu i ilością tych grup określoną na drodze miareczkowania (Abraham, 1939) oraz przez bezpośrednie oznaczenie wolnych grup kwasowych i zasadowych (Fraenkel-Conrat i Cooper, 1944; Lewis i in., 1950).

Lewis i in. (1950) zwrócili uwagę na obecność wolnych grup aminowych w stosunku do ilości azotu aminowego lizyny. Podobna różnica między ogólną ilością grup kwasowych i ilością obliczoną z zawartości tyrozyny, kwasu asparaginowego i glutaminowego prowadzi, zgodnie z badaniami rentgenologicznymi Palmera i Ballantyne'a (1948), do wniosku, że cząsteczka lizozymu składa się z 2 łańcuchów peptydowych.

Potwierdzenie tego wniosku zależy jednak od ostatecznego ustalenia zawartości kwasu asparaginowego. Tymczasem ostatnie badania Thompsona (1951) i Schroedera (1952) nad peptydami wyodrębnionymi z DNP — lizozymu, otrzymanego metodą Sangera (1949), wskazują, że lizozym składa się tylko z jednego łańcucha peptydowego. Do tego samego wniosku doszedł niezależnie Fraenkel-Conrat (1951), stosując alkilowanie grup SH powstających skutkiem traktowania lizozymu mocznikiem.

Obecnie prowadzi się badania mające na celu ustalenie kolejności rozmieszczenia aminokwasów w cząsteczce lizozymu. Niektóre z tych badań polegają na przeprowadzeniu kontrolowanej hydrolizy enzymu tak łagodnie, aby zamiast wolnych aminokwasów otrzymywać peptydy rozmaitej długości. Otrzymane w ten sposób peptydy rozdziela się za pomocą chromatografii bibułowej (Monier i Fromageot, 1950; Acher, Jutisz i Fromageot, 1950, 1952).

Inny sposób badania, oparty na wspomnianej powyżej metodzie Sangera (1949), polega na traktowaniu lizozymu 1,2,4-dwunitrofenolobenzenem, w wyniku czego powstają peptydy i kwasy dwunitrofenyloaminowe. Stosowanie tej metody umożliwiło Greenowi i Schroederowi (1951) stwierdzenie, że lizyna jest końcową grupą lizozymu i że znajduje się na aminowym końcu jego cząsteczki. Opracowana przez Schroedera (1952) kolejność występowania poszczególnych aminokwasów w cząsteczce enzymu, począwszy od aminowego końca łańcucha, przedstawia się następująco: lizyl - walil — fenylalanil — glicyl. Wynik ten, potwierdzony przez Thompsona (1952 c), prowadzi do wspomnianego już wyżej wniosku, że lizozym składa się tylko z jednego łańcucha peptydowego.

Należy oczekiwać, że następne prace, prowadzone po tej linii, dostarczą dalszych wyjaśnień. Niewątpliwie cenne wyniki można by otrzymać prowadząc badania peptydów uzyskanych przez hydrolizę enzymatyczną, w sposób analogiczny, jak miało to miejsce w wypadku insuliny. Lizozym, aczkolwiek odporny na działanie enzymów proteolitycznych (Alderton i in., 1945), ulega powolnemu trawieniu przez pepsynę, a podgrzany do 100° łatwo daje się trawić pepsyną i trypsyną. Zagadnieniem tym zaczęto się zaj-

mować stosunkowo niedawno, uzyskując już pewne ciekawe rezultaty. Opierając się na tym, że lizozym składa się z jednego łańcucha peptydowego, oraz, że karboksypeptydaza może odszczepić od łańcucha peptydowego końcowe aminokwasy zawierające wolną grupę karboksylową, Thompson (1952 a, 1952 b) wykazał, że w lizozymie resztą przy końcowym węglu jest leucyna.

Ten sam autor (Thompson, 1952 b, 1952 c) przebadał dokładnie peptydy uzyskane z częściowej hydrolizy lizozymu.

Do oznaczania kolejności występowania aminokwasów w peptydach zastosowano z dużym powodzeniem chromatografię lub jonoferezę po uprzednim zadziałaniu karboksypeptydazą i chymotrypsyną. Następnie stwierdzono (Thompson, 1952 c) ważny fakt, że na bakteriolityczną aktywność enzymu nie ma wpływu usunięcie za pomocą karboksypeptydazy reszty lizynowej przy węglu końcowym.

Niżej podana jest kolejność aminokwasów według danych uzyskanych z badań peptydów pochodzących z lizozymu (Thompson, 1952 b, 1952 c).

Ser. Asp. Gli. Met O_2
Tr. Glu. Ala.
Tr. Asp. Wal. Glu. Asp. Ileu.
Leu. Tr. Ala. Pro.
Asp. Ileu. Glu. Ala. Leu.
Ser. Asp. Glu. Ala. Wal.

Należy zaznaczyć, że dotychczas zwracano bardzo mało uwagi na skład lizozymu pochodzącego z innych źródeł niż białko jaja kurzego. Meyer, Hanhel i Steinberg (1946) wyizolowali lizozym z soku (lateksu) roślin (*Ficus*), jednak nie udało im się go otrzymać w stanie krystalicznym. Adsorpcję na bentonicie oraz aktywność i skład chemiczny tego lizozymu wydają się inne, niż lizozymu z białka jaja kurzego.

CIĘŻAR CZĄSTECZKOWY

Ciężar cząsteczkowy lizozymu oznaczali liczni badacze, stosując różne metody i otrzymując następujące wyniki:

Autor	Metoda	Ciężar cząsteczkowy
Meyer i współpr. (1936)	oznaczenia S i P	25,000
Abraham (1939)	sedymentacji	18,000
Oncley i Brown (1945)	„	14,000 — 17,000
Oncley i Brown (1945)	oznacz. ciśn. osmotycznego	17,000
Mohammed (1950)	„ „	16,600
Pasynski (1945)	dyfuzji	13,000
Halver i współpr. (1951)	rozpraszania światła	14,800
Palmer i współpr. (1948)	załamania promieni x	13,900
Fromageot i współpr. (1950)	analizy aminokwasów	14,700 ± 250
Lewis i współpr. (1950)	„ „	15,100
Wetter i Deutsch (1951)	sedymentacji i dyfuzji	17,200

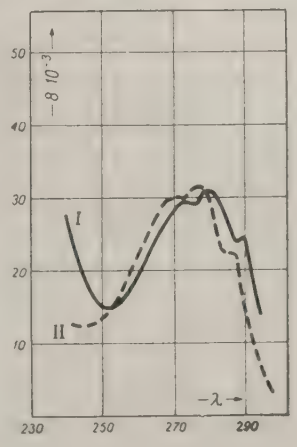
Wartość ciężaru cząsteczkowego podana przez Meyera i współpracowników oparta na danych analitycznych okazała się błędna, można ją

przeto pominąć. Wartość ciężaru cząsteczkowego oparta na pomiarze sedymentacji (Oncley i Brown 1945) została obliczona przy wzięciu za podstawę, że cząsteczkowa objętość właściwa wynosi 0,70 do 0,75. Jeśli przyjąć na podstawie składu aminokwasów cząsteczkową objętość właściwą za 0,72 to ciężar cząsteczkowy powinien wynosić 14,700 (Lewis i współpracownicy, 1950). Pomiary piknometryczne Wettera i Deutscha (1951) potwierdzają, iż obliczona cząsteczkowa objętość właściwa wynosi 0,72. Jest rzeczą ciekawą, że lizozym przechodzi przez woreczki celofanowe, które zatrzymują drobiny o mniejszym ciężarze cząsteczkowym, (Gildemeister, 1934; Fraenkel-Conrat, 1950; Shugar, 1952). W jednym doświadczeniu początkowa zawartość enzymu, wynosząca 1,2 mg/ml, spadła do 0,4 mg/ml po trzech dniach dializy, lecz swoista aktywność enzymatyczna pozostałości w woreczku nie zmieniła się (Shugar, 1952 a). Fraenkel-Conrat zauważył, iż każda reakcja prowadząca do zmniejszenia ilości grup zasadowych w enzymie bądź do zwiększenia ilości grup kwasowych zmniejsza jego zdolność przechodzenia przez błony.

WIDMO ABSORPCYJNE LIZOZYMU

Wielu autorów zajmowało się analizą widma absorpcyjnego lizozymu w ultrafiolecie, lecz najdokładniejsze są badania Fromageota i Schneka (1950).

Krzywe przedstawione na rys. 6 przedstawiają widma absorpcyjne w 0,1 N HCl i 0,1 N NaOH. Ciągła krzywa na tej rycinie przedstawia krzywą absorpcji obliczoną dla mieszaniny 5 moli tryptofanu, 5 moli tyrozyny i 5 moli cystyny. Aminokwasy te są, według Fromageota i Schneka oraz Lewisa i współpracowników, składnikami enzymu, jak to wynika z jego ciężaru cząsteczkowego wynoszącego 14,700. Jeśli się weźmie pod uwagę, iż przyłączenie aromatycznego aminokwasu do cząsteczki białka powoduje przesunięcie absorpcji mniej więcj o 15 — 20 Å (Beaven, Holiday i Jope, 1950), to można zauważyć zadowalającą zgodność między obserwowanym i przewidywanym widmem absorpcyjnym. Zastosowanie metody Holidaya (1936) lub modyfikacji tej metody przez Goodwina i Mortona (1946) nie daje tak dobrych wyników, jak z innymi białkami.



Rys. 6

Uwzględniwszy, iż widmo absorpcyjne tryptofanu ulega znacznie mniejszym wahaniom przy zmianie pH niż widmo absorpcyjne tyrozyny, Fromageot i Schneck mierzyli zmianę widma absorpcyjnego lizozymu w odniesieniu do pH. Z otrzymanych wyników obliczali pH grupy

fenolowej tyrozyny. Znaleziona wartość wynosiła 10,8, zaś wolnej tyrozyny 10,1. Wykazano również (Shugar, 1952b), że wolna grupa tyrozyny w lizozymie nie bierze udziału w budowie mostu wodorowego, jak to ma miejsce w ribonukleazie, enzymie o takim samym ciężarze cząsteczkowym.

Fromageot i Schneck zauważyli także, że widmo absorpcyjne lizozymu zmienione przy pH 13 może być całkowicie przywrócone do pierwotnej postaci w środowisku neutralnym, sugerując tym samym, iż lizozym nie ulega łatwo denaturacji w alkalicznym środowisku. Jest to zgodne z obserwacjami Shugara (1952a), który stwierdził, że aktywność lizozymu jest dość trwała przy pH 12.

Kertesz i Casalli (1950) zauważyli, iż lizozym inaktywowany w 50% pod działaniem tyrozynazy poprzez woreczek celofanowy przyjmuje barwę czerwoną i maksimum absorpcji zachodzi wtedy przy długości fal 4800 Å. Wzrasta również absorpcja przy długości fali 2790 Å. Można następnie przywrócić aktywność tak unieczynnionemu lizozymowi redukując go za pomocą kwaśnego siarczynu sodu. Pasmo absorpcyjne, odpowiadające 4800 Å, znika, lecz pozostaje niezmieniona absorpcja przy 2790 Å. Powodem tego ma być utlenienie grupy fenolowej tyrozyny do O-chinonu z następną jego redukcją do O-dwuhydroksyfenolu. Wyniki te są ciekawe i z innego względu; wskazują one bowiem, iż nienaruszona grupa fenolowa nie odgrywa żadnej lub tylko niewielką rolę w enzymatycznej funkcji cząsteczki. Wyniki te są sprzeczne z wynikami Fraenkel-Conrata (1950).

Widmo absorpcyjne lizozymu w podczerwieni opisali Klotz, Griswold i Gruen (1949).

DZIAŁANIE ZWIĄZKÓW CHEMICZNYCH NA LIZOZYM

Lizozym jest względnie odporny na działanie czynników denaturujących białko, jest natomiast wrażliwy na działanie różnych innych czynników chemicznych. W reagowaniu tego enzymu z rozmaitymi substancjami chemicznymi odgrywają głównie rolę grupy aminowe, karboksylowe i alkaliczne grupy OH (Alderton i współpr., 1946; Fraenkel-Conrat, 1950). Ksanthydrol, związek chemiczny przypuszczalnie swoisty dla amidów, inaktywuje lizozym; zachodzi to również przy kwaśnej hydrolizie grup amidowych (Proctor i Dickman, 1949). Mocznik nie wykazuje widocznego działania na ten enzym lecz reaguje z niektórymi jego grupami chemicznymi (Fraenkel-Conrat, 1949). Tak np. nieczynne grupy hydroksylowe tyrozyny i nieczynne wiązania -S-S- przechodzą w ugrupowania czynne po rozpuszczeniu enzymu w 6 M moczniku, gdzie prawdopodobnie wiązanie -S-S- ulega redukcji. Ten sam autor (Fraenkel-Conrat, 1951) badał działanie 2-merkapto-etanolu na lizozym w obecności mocznika. Dodanie jodoacetamidu powoduje alkilację ugrupowań SH, co daje związek alkilowy prawie tego samego ciężaru cząsteczkowego co produkt wyjściowy. Wskazuje to, iż lizozym jest zbudowany z pojedynczego łańcucha peptydowego, zawierającego wewnątrz cząsteczki krzyżowo połączone grupy -S-S-.

Fraenkel-Conrat (1950) wymienia całą listę związków chemicznych i opisuje ich działanie na ugrupowania chemiczne lizozymu. Inakty-

wacja jest powodowana działaniem na grupy aminowe, karboksylowe, amidowe, guanidylowe i hydroksylowe. Działanie chemiczne na grupy indolowe ma być mniej skuteczne, co pozostaje w sprzeczności z wynikami Shugara (1951 b) oraz Weila i współpracowników (1952).

Dawniejsze obserwacje Meyera i współpracowników (1936), według których jod inaktywuje lizozym, który można następnie reaktywować siarczynem, były przedmiotem powtórnych dokładnych badań Fraenkel-Conrata. Badania te wykazały, że jod nie reaguje z grupami — SH, lecz działa na jedyną grupę imidazolową białka. Sprawa ta jest jednak mniejszej wagi, ponieważ połowa grup fenolowych wiąże jod.

Związki obniżające napięcie powierzchniowe, jak np. siarczan dodecylu, inaktywują lizozym (Meyer i współpr., 1947). Smith i Stocker (1949) stwierdzili, iż siarczany alkilowe, kwasy tłuszczowe, sole sodowe kwasów tłuszczowych i długołańcuchowe alkohole alifatyczne hamują działanie lizozymu, jeśli ich cząsteczki zawierają co najmniej 12 atomów węgla. Nie można przywrócić aktywności lizozymu ani dializą, ani drogą precypitacji związków inaktywujących za pomocą soli wapnia lub baru. Dane otrzymane na drodze badania przewodnictwa elektryczności i na podstawie pomiarów elektroforetycznych wykazały, iż zahamowanie aktywności nie jest powodowane powstaniem związków nierozpuszczalnych, lecz jest prawdopodobnie wynikiem zmian powstałych w samej cząsteczce białka.

Glassman i Molner (1951) badali precypitację i inaktywację lizozymu przez substancje obniżające napięcie powierzchniowe, niejonowe, anionowe i kationowe. Pierwsze nie powodowały precypitacji, zaś pozostałe rodzaje łączyły się stechiometrycznie z odpowiednimi grupami enzymu o przeciwnych ładunkach, co powodowało inaktywację w 100%.

Innej ciekawej obserwacji dokonali Klotz i Walker (1948). Autorzy ci zauważyli, iż oranż metylowy, barwnik najczęściej używany do badań połączeń białek z anionami, nie wiąże się z lizozymem, chociaż punkt izoelektryczny tego enzymu wynosi około 11 i enzym ten w środowisku obojętnym ma około 20 grup kationowych. Wyniki te skłoniły Colvina (1952) do dokładniejszego zbadania możliwości połączeń lizozymu z anionami: oranżem metylowym, oranżem I, oranżem II i 2—3 dwunitro-1-naftol-7-kwasem sulfonowym. Potwierdzając wyniki Klotza i Walkera autor ten wykazał, że izotermy adsorpcyjne dla innych barwników wykazują anomalie. Zdaniem Colvina adsorpcja barwnika nie zależy tylko od połączeń elektrostatycznych a tworzy się pewien rodzaj powłok rozpuszczalnika otaczających naładowaną cząsteczkę białka.

FUNKCJE LIZOZYMU

Stwierdzono, iż lizozym działa tylko na nieliczne bakterie chorobotwórcze i to w stężeniach znacznie większych niż te, jakie są potrzebne do rozpuszczenia *Micrococcus lysodeicticus* lub *Sarcina lutea*. Według Ridleya stężenie lizozymu w łzach działa na niektóre chorobotwórcze bakterie, lecz nawet przy nieznacznym tylko zmniejszeniu tego stężenia nie można już w ogóle zaobserwować działania na chorobotwórcze bakterie. Regan (1950) cytuje radzieckie piśmiennictwo dotyczące wykorzystania lizozymu do ochrony gardła śpiewaków i konserwacji kawioru.

Fakt, że lizozym działa *in vitro* tylko na nieliczne gatunki bakterii, nie przesądza sprawy jego aktywności w stosunku do chorobotwórczych drobnoustrojów, ponieważ pewne znaczenie mogą mieć zjawiska adaptacji. Fleming i Allison (1927) np. wykazali, iż jedno przeszczepienie *Micrococcus lysodeicticus* było dostateczne, aby drobnoustrój ten stał się odporny na działanie lizozymu zawartego w tkankach. Bakterie gram-ujemne zabite przez ogrzewanie ulegają łatwo rozpuszczeniu przez lizozym. Thompson (1940, 1941) daje przegląd piśmiennictwa dotyczącego właściwości antybakteryjnych lizozymu w łzach, tkankach i w wydzielinach. Według Jermołajewej i Bujanowskiej (1938) istnieją widoki na lecznicze wykorzystanie lizozymu. Enzym ten Tartawska (1939) wykorzystała w leczeniu schorzeń rogówki, a Czeczek-Kunina (1945) w leczeniu oparzeń i uszkodzeń oka.

Lizozym wybitnie przypomina inny mukolityczny enzym, hyaluronidazę. Oba te enzymy ulegają odwracalnemu utlenieniu; w niskich stężeniach oba katalizują depolimeryzację substratu bez powiększenia ilości grup redukujących (ilość lizozymu niezbędna do wytworzenia cukru redukującego jest setki razy większa od ilości potrzebnej do zniesienia lepkości). Depolimeryzacja substratu bez rozrywania wiązania glukozydowego przez oba enzymy jest aktywowana przez jony chloru. Przypuszcza się, iż funkcja lizozymu jest głównie metaboliczna, a jego aktywność lityczna przypadkowa. Fakt, iż enzym ten występuje w niektórych bakteriach (włączając w to niektóre nań wrażliwe), w tkance chrzęstnej i w roślinach pozwala przypuszczać, iż odgrywa on pewną rolę w metabolizmie związanym z hydrolizą mukopolisacharydowych składników tkanek. Przypuszczenie takie można by było uznać za słuszne, gdyby wykazano obecność substratu dla tego enzymu w różnych organach zwierzęcych. Dotychczas jednak tego nie wykazano. Meyer (1946) podtrzymuje pogląd o metabolicznej roli lizozymu, podając jako argument jego obecność w bakteriach. Według niego błona komórkowa bakterii ulega zmiękczeniu w czasie podziału komórki pod wpływem działania lizozymu na substancje wielocukrowe. Nie można jednak uogólniać tej sprawy, ponieważ tylko w niewielu przypadkach wykryto lizozym w komórce bakteryjnej.

Właściwości antybakteryjne lizozymu i możność jego zastosowania w lecznictwie są nadal przedmiotem licznych badań. O niektórych z nich możemy tylko pokrótce tu wspomnieć.

Są dowody ochronnego działania lizozymu przy awitaminozie A (Findlay, 1925). Udało się wyleczyć u szczurów kseroftalmię spowodowaną przez awitaminozę A przez przemycie ich oczu lizozymem. Anderson (1932) stwierdził w łzach bliźniąt, chorujących na kseroftalmię, nienormalnie niskie ilości lizozymu; po wzbogaceniu diety bliźniąt witaminą A objawy chorobowe cofnęły się, a ilość lizozymu się zwiększyła.

Ciężkie przeżycia psychiczne u osób z chorobą wrzodową powodują nagły wzrost ilości lizozymu w jelitach (Meyer, cytowany przez Regana, 1950).

Meyer, Prudden, Lehman i Steinberg (1947) stwierdzili wysokie miano lizozymu w wydzielinach żołądkowych osób z chorobą wrzodową. Meyer, Gelhorn, Prudden, Lehman i Steinberg (1947) stwierdzili to samo w kale tych chorych.

W związku z tym wysunięto hipotezę, iż przyczyną choroby wrzodowej ma być lokalne wytwarzanie lizozymu, po czym bakterie wywołują odczyny nekrotyczne na śluzówce pozbawionej warstwy ochronnej wskutek hydrolizującej działalności lizozymu. O szkodliwym działaniu lizozymu z białka kurzego na śluzówkę przewodu pokarmowego donoszą P r u d d e n, L a n e i M e y e r (1949) oraz G r a c e, S a a t o n, W o l f f i W o l f f (1949). Interpretacja M e y e r a i współpracowników została zakwestionowana przez G l a s s a i in. (1950); autorzy ci stwierdzili, że śluz jelita grubego nie jest *in vitro* trawiony przez lizozym i że koncentracja lizozymu, stosowana w doświadczeniach M e y e r a i in. do wytworzenia owrzodzenia u psów, jest wyższa niż ta, którą spotyka się zwykle w procesach patologicznych u człowieka. Według obserwacji G r a y a i in. (1950, 1951) aktywność lizozymu kałowego jest hamowana przez doustne podawanie detergentu, bursztynianu dioctylsulfo-sodowego, przy czym nie wpływa to na przebieg choroby; uczeni ci zauważyli widoczny wzrost ilości lizozymu w kale u wszystkich pacjentów, wykazujących polepszenie stanu zdrowia w wyniku kuracji ACTH. Wskazuje to, wg ich zdania, że zawartość lizozymu zależy od zakresu odczynu tkankowego i zdolności reagowania na uszkodzenie. Przy odpowiedniej reakcji tkankowej zawartość lizozymu służy jako wskaźnik żywotności procesu chorobowego. Należy jednak dodać, że zahamowanie czynności lizozymu w kale przez detergent nie świadczy o tym, że enzym jest hamowany przez komórki śluzowe; ponadto działanie mukolityczne lizozymu na śluz międzykomórkowy, o ile istnieje, nie jest znane. S a m m o n s (1951) wykazał, że źródłem lizozymu w kale chorych na owrzodzenie jelita grubego mogą być leukocyty i że kał tych chorych zawiera inny rodzaj mucynazy (nie występującej u osobników zdrowych), atakującej śluz. Ogólny wniosek z powyższych faktów jest następujący (Editorial, J. Am. Med. Ass. 148, 653, 1952): ilość lizozymu jest wskaźnikiem stopnia ostrości przebiegu choroby wrzodowej jelita grubego i miarą zdolności funkcjonowania tkanki jelita.

Znaczenie kliniczne lizozymu przy owrzodzeniu jelita grubego jest dostateczną gwarancją konieczności prowadzenia dalszych badań nad jego rolą w tej chorobie; wyniki będą miały niewątpliwie doniosłe znaczenie również i dla wyświetlenia jego funkcji w ogóle w organizmie.

L a t o i C o l u c c i (1949) badali zawartość lizozymu we krwi oseskow 1—8 miesięcznych. Oseski na sztucznym pokarmie miały wyższy poziom lizozymu, niż oseski karmione przez matki. Dzieci w wieku 2—13 lat cierpiące na różne schorzenia wykazywały nienormalnie niski poziom lizozymu; po powrocie do zdrowia ilość lizozymu wzrosła.

Badano również zawartość lizozymu w moczu. Spośród 600 badanych dzieci u 26% wykryto w moczu lizozym. Dziewczęta wydzielały z moczem 5 razy więcej lizozymu niż chłopcy; podobne wyniki otrzymano u królików. Wprowadzenie surowego białka jaja kurzego nie spowodowało zmian w ilości lizozymu w moczu w ciągu 48 godz. Wydzielanie lizozymu w moczu u zdrowych dzieci było takie samo jak i u chorych.

Owrzodzeniom rogówki towarzyszy zmniejszenie się ilości lizozymu we łzach (C a v k a i P r i c a, 1929; H a l l a u e r, 1930; R e g a n, 1950). Należy jednakże wykazać czy zmniejszenie się ilości lizozymu jest wynikiem

owrzodzenia, czy odwrotnie, lub wreszcie czy nie jest wynikiem nadmiernego ługawienia powodowanego przez owrzodzenie.

Ponomarowa (1946 a) stwierdziła, iż zastosowanie lizozymu do jątrzących się ran powierzchniowych przyśpiesza proces gojenia i nie powoduje przy tym żadnych zmian w tkance. Stwierdzono również, iż lizozym niszczy ropotwórcze bakterie, lecz po pewnym czasie bakterie stają się odporne na działanie enzymu (Ponomarowa, 1946 b).

Gratia (1936) zauważył związek między działaniem lizozymu i pojawieniem się bakteriofaga. Obserwacje Gratii nie znalazły jak się zdaje potwierdzenia.

Meyer (1944) wykrył lizozym w 7 różnych preparatach awidyny oraz stwierdził około 500-krotne zwiększenie aktywności lizozymu pod wpływem biotyny, która jak wiadomo łączy się stechiometrycznie z awidyną. Jakkolwiek obserwacji tych nie udało się powtórzyć, przypuszcza się, iż istnieje jakieś pokrewieństwo między tymi dwoma białkami (Meyer i Hahnel, 1946).

Hawthorne (1950 a) zauważył, iż zmniejszenie się grubości warstwy białka w jajach w czasie ich przechowywania zależy częściowo od działania lizozymu na mucynę. Ze względu na znaczenie przechowywania jaj w miesiącach zimowych, sprawa ta jest warta dalszych badań.

ZASTOSOWANIE LIZOZYMU W INNYCH BADANIACH

Ze względu na łatwość otrzymania lizozymu i jego działanie na wiele bakterii, wykorzystano ten enzym do ekstrakcji bakterii dla różnych badań.

Tak np. Herbert i Pinsent (1948) wykorzystali lizozym do uwolnienia zawartości komórek *Micrococcus lysodeicticus*. Z zawartości tej udało się im wyodrębnić katalazę w krystalicznej postaci i porównać jej właściwości fizyczne i chemiczne z katalazą otrzymaną ze ssaków. Autorzy ci stwierdzili, iż aktywność katalazy w zawiesinie bakterii wzrasta 10-krotnie po rozpuszczeniu bakterii. Dane te są zgodne z uprzednimi obserwacjami Penrosego i Quastela (1930).

Krampitz i Werkman (1941) stwierdzili, iż nietknięte komórki *Micrococcus lysodeicticus* nie działają na kwas szczawiowo-octowy, podczas gdy rozpuszczone bakterie szybko powodują dekarboksylację tego kwasu.

Opierając się na obserwacjach Webba (1948) oraz dawniejszych, Califano (1949) badał uwalnianie się kwasów nukleinowych z bakterii poddanych działaniu lizozymu. Sugerowano nawet, iż uwalnianie się kwasu rybonukleinowego można wykorzystać jako miernik wrażliwości danego drobnoustroju na działanie czynnika litycznego.

Gorini i Crevier (1951) przy użyciu lizozymu wykazali, iż w komórkach bakteryjnych w momencie lizy znajdują się proteinazy zdolne do rozpuszczania białka własnych komórek.

Wrażliwość drobnoustroju termofilnego o optymalnej temperaturze wzrostu 65° została wykorzystana przez Militzera i współpracowników (1949) do ekstrakcji zawartości komórkowej tego drobnoustroju i do ciekawych badań *in vitro* nad ciepłostałością różnych enzymów.

Kingkade, Ruff i Behrens (1948) wykorzystali lizozym do

przygotowania podłóż pozbawionych komórek w celu zbadania możliwości rozwoju wirusów w takich podłożach.

Stone (1952) usiłował wyjaśnić mechanizm tworzenia toksyny przez *Cl. tetani*, posługując się lizozymem w celu autolizowania komórek. Według obecnie panującej teorii, maksimum ilości toksyny wydziela się do środowiska w pierwszych momentach rozpuszczania się komórek. Doświadczenia dowiodły, że stężenie lizozymu w ilości 5—10 mg/ml wpływa na komórki i na jakość toksyny, a nie na jej ilość. Ogólne wyniki wskazują, że zagadnienie to warte jest tego, aby poświęcić mu dalsze badania.

KIERUNEK PRZYSZŁYCH BADAŃ NAD LIZOZYMEM

W obecnej chwili badania koncentrują się głównie nad budową chemiczną i strukturą lizozymu. Stopniowe wyjaśnienie tych zagadnień zwiększa wartość prac nad właściwościami biologicznymi enzymu i jego budową. Niezbędne są obecnie badania nad kinetyką lizozymu. Badania takie muszą oczywiście być prowadzone przy użyciu jako substratu oczyszczonego mukopolisacharydu. Jest oczywiście rzeczą możliwą, iż w wyniku tych badań okaże się konieczne lepsze oczyszczenie substratu, niż to jest możliwe obecnie. Trzeba będzie również zwrócić uwagę na rolę różnych inhibitorów i wyjaśnić ich znaczenie. Nie ma dotychczas badań ilościowych nad lizozymem innego pochodzenia niż z białka jaja kurzego. Byłoby rzeczą ciekawą wyodrębnić i zbadać lizozym z łez, gdzie jego stężenie jest porównywalne ze stężeniem w białku kurzym.

Niezbędne są badania nad mukopolisacharydem — substratem dla enzymu. Można to uczynić badając za pomocą chromatografii produkty jego rozpadu w wyniku działania lizozymem. Prace tego rodzaju mogą przyczynić się do wyjaśnienia roli tego związku w błonach komórkowych. Badania dotyczące obecności lub braku tej substancji w narządach ssaków zawierających lizozym mają duże znaczenie teoretyczne, a nawet kliniczne.

Jest rzeczą dziwną, iż obserwacje Webba (1948) dotyczące rozpuszczenia martwych chorobotwórczych bakterii przez lizozym nie pobudziły dotychczas do dalszych badań. Jest to ważne ze względu na możliwość klinicznego wykorzystania antybakteryjnych właściwości lizozymu oraz ze względu na możliwość wyjaśnienia mechanizmu barwienia się bakterii metodą Grama.

UZUPEŁNIENIE

W okresie pisania i oddania do druku niniejszego artykułu pojawiły się prace, o których warto powiedzieć kilka słów.

Jolles i Fromageot (1953) wyizolowali ze śledziony królika dwie substancje w formie krystalicznej, które wykazują aktywność w stosunku do *M. lysodeicticus* i innych bakterii podobną do aktywności lizozymu. Reagują one z ninhydryną i bardzo słabo z odczynnikiem Folin-Ciocolten. Wydają się być peptydami o długich łańcuchach lub białkami o niskim ciężarze cząsteczkowym, ale wyraźnie różnią się od lizozymu zarówno składem chemicznym, jak i strukturą. Bliższe zbadanie tych substancji niewątpliwie dostarczy nowych danych, mających znaczenie dla wyjaśnienia struktury i sposobu działania lizozymu.

Okazało się, na drodze badań turbidimetrycznych przy zastosowaniu bakterii jako substratu (Grace i Kirby, 1953) i metod wiskozymetrycznych przy użyciu mukupolisacharydów (Kaiser, 1953), że heparyna w bardzo niskich stężeniach hamuje aktywność lizozymu.

Zahamowanie aktywności następuje przez „współzawodnictwo", a analogiczne hamowanie wykazano w stosunku do hyaluronidazy.

Welshimer (1953) stosując metody barwienia i Tomcik i Guex-Holzer (1953) stosując metody immuno-chemiczne, badali rozmieszczenie substratu lizozymu w otoczce, ściance i błonie bakterii. Obydwie prace wskazują na obecność polisacharydów w substancji otoczki i błony komórkowej, atakowanych przez lizozym.

Gorini i Felix (1953) wykazali, że spośród kationów — Mn^{++} w znacznym stopniu ochrania swoiście lizozym przed inaktywacją cieplną, przypuszczalnie wskutek tworzenia się pewnego odwracalnego kompleksu

LITERATURA

1. Abraham E. P. & Robinson R., 1937: *Nature* **140**:24.
2. Abraham E. P., 1939: *Biochem. J.* **33** : 622.
3. Acher R., Jutisz M. & Fromageot C., 1950: *Biochim. Biophys. Acta* 5:493.
4. Acher R., Jutisz M. & Fromageot C., 1952: *Biochim. Biophys. Acta* 8:442.
5. Alderton G., Ward W. H. & Fevold H. L., 1945: *J. Biol. Chem.* **157**:43.
6. Alderton G. & Fevold H. L., 1946: *J. Biol.* **164**:1.
7. Alderton G., Fevold H. L. & Lightbody H. D., 1946: *Fed. Proc.* II, 5:119.
8. Anderson E. A. & Alberty R. A., 1948: *J. Phys. Coll. Chem.* **52**:1345.
9. Anderson O., 1932: *Acta Paediat.* **14**:81.
10. Beaven G. H., Holiday E. R. & Jope E. M., 1950: *Far. Soc. Dis.* No 9, 406.
11. Bloomfield A., 1919: *Bull. Johns Hopkins Hospital* **30**:317.
12. Boasson E. H., 1938: *J. Immunol.* **34**,281.
13. Califano L., 1949: *Bolletino I. S. M.* **28**:366.
14. Califano L., 1950: *R. C. Accad. Lincei,* Ser 8,**8**:94 i **9**,142.
15. Califano L., 1952: *Bull. World Health Org.* **6**:19.
16. Caselli P., 1943: *Boll. Ist. Sieroter.* Milano **22**:336.
17. Cavka V., Prica M., 1929: *Arch. f. Ophth.* **121**:740.
18. Czeczek-Kunina E., 1945: *Wiestnik. Oft.* **24**:42.
19. Colvin J. R., 1952: *Can.-Journ. Res.* **30**:320.
20. Cutanelli C., 1949: *Riv. Ist. Sieroter.* Italia **24**:157.
21. Dickman S. R. & Proctor C. M., 1952: *Arch. Biochem. Biophys.* **40** : 364.
22. Dorfman W. A., Mołdarska E. A., Kastorska T. L. & Zasypkina P. S., 1945: *Biochimja* **10**:407.
23. Epstein A. & Chain E., 1940: *Brit. J. Exp. Path.* **21**:339.
24. Feiner E. R., Meyer K. & Steinberg A., 1946: *J. Bacteriol.* **52**:375.
25. Fevold H. L., 1951: *Ad. Prot. Chem.* **6**:187.
26. Findley G. M., 1952: *Brit. J. Exp. Path.* **6**:16.
27. Fleming A., 1922: *Proc. Roy. Soc.* **B 93** : 306.

28. Fleming A. & Allison V. D., 1927: *Brit. J. Exp. Path.* **8**:214.
29. Fleming A., 1929: *Lancet* **216**:217
30. Fraenkel-Conrat H. & Cooper M., 1944: *J. Biol. Chem.* **154**:239.
31. Fraenkel-Conrat H., 1949: *2nd Intern. Biochem. Cong.*, Cambridge.
32. Fraenkel-Conrat H., 1950: *Arch. Biochem.* **27**:109.
33. Fraenkel-Conrat H., 1951: *J. Amer. Chem. Soc.* **73**:625.
34. Fromageot C., 1948: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Supl. No **11-12**, 63.
35. Fromageot C. & Schnek G., 1950: *Biochim. Biophys. Acta* **6**:113.
36. Fromageot C. & de Carihe M. P., 1950: *Biochim. Biophys. Acta* **4** : 509.
37. Gildemeister E., 1934: *Zentralb. f. Bacteriol. O.*, **133** : 101.
38. Glass, G. B. g. et al,, 1950: *J. Chim. Investg.* **29** . 12.
39. Glasman H. N. & Molner D. M., 1950: *Arch. Biochem. Biophys.* **32** : 170.
40. Goodwin T. W. & Morton R. A., 1946: *Biochem. J.* **40** : 628.
41. Gorini L. & Crevier M., 1951: *Biochim. Biophyps. Acta* **7** : 291.
42. Gorini L. & Felix F., 1952: *3rd Intern. Biochem. Cong.*, Paris.
43. Grace W. J., Seaton D. H., Wolff S. & Wolff H. G., 1949: *Am. J. Med. Sci* **217** : 241.
44. Gratia A., 1936: *Ann. Inst. Past.* **56** : 307 & **57** : 652.
45. Gray, S. G. et al., 1950: *Gastroenterology* **16** : 687; (1951): *A. M. A. Arch. Int. Med.* **87** : 646.
46. Green F. C. & Schoeder W. A., 1951: *J. Am. Chem. Soc.* **73** : 1385.
47. Hallauer C., 1929: *Zentralb. f. Bakt.* **114**: 519.
48. Hallauer C., 1930: *Arch. f. Augenh.* **103** : 199.
49. Halver N., Nutting G. C., & Brice B. A., 1951:*J. Am. Chem. Soc.* **73** : 2786.
50. Hartsell S. E., 1948: *Proc. Indiana Acad. Sci.* **57** : 44.
51. Hawthorne J. R., 1950 a: *Biochim. Biophys. Acta* **6** : 28.
52. Hawthorne J. R., 1950 b:*Biochim. Biophys. Acta* **6** : 94.
53. Henry H. & Stacey M., 1946: *Proc. Roy. Soc.* **B 133** : 391.
54. Herbert D. & Pinsent J., 1948: *Biochem. J.* **43** : 195.
55. Herbert D., 1951: Osobiste doniesienie.
56. Holiday E. R., 1936: *Biochem. J.* **30** : 1795.
57. Holyoke E. D. & Johnson F. M., 1951: *Arch. Biochim. Biophys.* **31** : 41.
58. Jermołajewa Z. W., & Bujanowska J. S., 1931:*Zentralb. f. Bakt.* **122** : 267.
59. Jermołajewa Z. W., Bujanowska J. S. & Kałuchnaja A. M., 1953, *Żurnał Mikrobiol. Epidiemiol Immunbiol.* 10.
60. Jermołajewa Z. W. & Bujanowska J. S., 1936: Konferencja na tem. zmienności bakterii, p. 459.
61. Jermołajewa Z. W., 1938: *Usp. sowriemiennoj biol.* **9** : 68.
62. Jermołajewa Z. W. & Bujanowska J. S., 1938: *Acta Med. ZSRR* **1** : 248.
63. Jones F. T., 1946: *J. Am. Chem. Soc.* **68** : 854.
64. Jutisz M. & Penasse L., 1952: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **34**, 480.
65. Kern R. A., Kingkade M. J., Kern S. F. & Behrens O. K., 1951 *J. Bact.* **61** : 171.
66. Kertesz D. & Caselli P., 1950: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **32** : 583.
67. Klemparska N. N., 1939: *Z. Mikrobiol. Epid. Immunitatsforschung* No. 2-3. 124.
68. Klotz I. M. & Walker F. M., 1948: *Arch. Biochem.* **18** : 319.
69. Klotz I. M., Griswold P. & Gruen D. M., 1949: *J. Am. Chem. Soc.* **71** : 615.

70. Krampitz L. O. & Werkman C. H., 1941: *Biochem. J.* **35** : 395.
71. Krasilnikow N. A. & Koreniako A. I., 1939: *Mikrobiologia* (ZSRR) **8** : 673.
72. Kriss A. Y., 1940: *Mikrobiologia* (ZSRR) **9** : 32.
73. Laszczenko P., 1909: *Z. f. Hyg. Infektionskr.* **64** : 419.
74. Lato M. & Colucci S., 1949: *Riv. Biol.* (Perugia) **41** : 477.
75. Lewis J. C., Snell H. S., Hirshman D. J. & Fraenkel-Conrat H., 1950: *J. Biol. Chem.* 186.
76. Longworth L. G., Canaan R. K. & Mac Innes D. A., 1940: *J. Am. Chem. Soc.* **62** : 2580.
77. Mesrobeanu L. & Noeppel O., 1938: *Arch. Roum. Pat. Exp. Microbiol.* **11** : 247.
78. Meyer K., Thompson R., Palmer J. W. & Khorazo D., 1936: *J. Biol. Chem.* **113** : 303.
79. Meyer K., 1944: *Science* **99** : 391.
80. Meyer K., 1946: *Currents in Biochemical Research,* ed D. A. Green.
81. Meyer K. & Hanhel E., 1946: *J. Biol. Chem.* **163** : 723.
82. Meyer K., Hanhel E. & Steinberg A., 1946: *J. Biol. Chem.* **163** : 733.
83. Meyer K., Prudden J. F., Lehman W. L. & Steinberg A., 1947 *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **65** : 220.
84. Meyer K., Gelhorn A., Prudden J. F., Lehman W. L. & Steinberg A, 1947: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **65** : 221.
85. Militzer W., Sonderegger T. B., Tuttle L. C., & Georgi C. E., 1949. *Arch. Biochem.* **24** : 75.
86. Mohammed A. — wg Lewis et al., 1950.
87. Monier R., Gendron Y., Jutisz M. & Fromageot C., 1952: *Biochim. Biophys. Acta* **8** : 588.
88. Moss J. H. & Martin G. J., 1948: *Am. J. Dig. Dis.* **15** : 412.
89. Nihoul E., 1951: *C. R. Soc. Biol.* **145**,1891.
90. Nihoul E., Massart L. & van Heel G., 1951: *Arch. intern. pharmacodynamie* **88** : 123.
91. Oncley J. L. & Brown E., 1945:wg Alderton G. & Fevold H. L., *Arch. Biochem.* **8** : 415.
92. Paikina S. Sh., 1942: *Chem. Zentralb.* **1** : 499.
93. Palmer K. J., Ballatyne M. & Galvin J. A., 1948: *J. Am. Chem. Soc.* **70** : 906.
94. Palmer K. J. & Ballatyne M., 1948: *Intern. Cong. Crystallography,* Harward.
95. Pasynski A. G. & Płaskiejew W., 1945: *Dokl. Akad. Nauk ZSRR* **48** : 579.
96. Pasynski A. G. & Kastorska T., 1945: *Dokl. Akad. Nauk ZSRR* **49** : 504.
97. Penrose M. & Quastel J. H., 1930: *Proc. Roy. Soc.* **B107** : 168.
98. Pirie A., 1940: *Brit. J. Exp. Path.* **21** : 125.
99. Ponomarowa O. I., 1946 a: *Am. Rev. Sov. Med.* **3** : 426.
100. Ponomarowa O. I., 1946 b: *Am. Rev. Sov. Med.* **3** : 432.
101. Proctor C. M. & Dickman S. R., 1949: *Fed. Proc.* **8** : 239.
102. Prudden J. F., Lane N. & Meyer K., 1949: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **72** : 38.
103. Regan E., 1950: *Am. J. Ophthal.* **38** : 600.
104. Ridley F., 1940: *Modern Trends in Ophthalmology,* London, Hoeher.
105. Roberts E. A. H., 1937: *Quart. J. Exp. Physiol.* **27** : 89.
106. Salton N. R. J., 1952: *Nature* **170** : 746.
107. Sammons H. G., 1951: *Lancet* **2** : 239.
108. Sanger F., 1949: *Cold Spring Harbour Symp. Quant, Biol.* **14** : 153.

109. Szabordin D. A., 1940: *Arch. Biol. Nauk. ZSRR* **60** : 83.
110. Schoeder W. A., 1952: *J. Am. Chem. Soc.* **74** : 710.
111. Shugar D., 1951a: dane nie opublikowane.
112. Shugar D., 1951b: *Bull. Soc. Chim. Biol.* **33** : 710.
113. Shugar D., 1952a: *Biochim. Biophys. Acta* **8** : 302.
114. Shugar D., 1952b: *Biochem. J.* **52** : 142.
115. Singer T. P. et al., 1951: *Toxicology of Uranium, Natl. Nucl Energy Series* **23** : 208
116. Smith G. N., & Stocker C., 1949: *Arch. Biochem.* **21** : 383.
117. Smolelis A. N. & Hartsell S. E., 1949: *J. Bact.* **58** : 731.
118. Smolelis A. N. & Hartsell, 1952: *J. Bact.* **63** : 665.
119. Smolens J. & Charney J., 1947: *J. Bact.* **54** : 101.
120. Stone S. L., 1952: *J. Bact.* **64** : 299.
121. Suzuki S., 1911: *Arch. f. Hyg.* **74** : 345.
122. Tallan H. H. & Stein W. H., 1951: *J. Am. Chem. Soc.* **73** : 2976.
123. Tartawska S. L., 1939: *Wiestnik. Oft.* **14** : 20.
124. Thompson A. R., 1951: *Nature* **168** : 390.
125. Thompson A. R., 1952a: *Nature* **169** : 495.
126. Thompson A. R., 1952b: 3rd *Intern. Cong. Biochem.*, Paris.
127. Thompson A. R., 1952c: Osobiste doniesienie.
128. Thompson A. R., 1940: *Arch. Path.* **30** : 1096.
129. Thompson R., 1941: *Arch. Ophthal.* **25** : 491.
130. Webb M., 1948: *J. Gen. Microbiol.* **2** : 260.
131. Weil L. et al., 1952: *Arch. Biophys.* **40** : 245.
132. Welsch M., 1951: *C. R. Soc. Biol.* **145** : 778.
133. Wetter L. R. & Deutsch H. F., 1951: *J. Biol. Chem.* **192** : 237.
134. Wilson A. T. & Hadley W. P., 1950: *J. Pediat.* **36** : 39.
135. Wolff L. K., 1927: *Z. Immunitätsforsch.* **50** : 88.
136. Woodruff M. B. & Waksman S. A., 1942: *J. Bact.* **44** : 373.

J. Strzemska

BIBLIOGRAFIA PRAC Z ZAKRESU MIKORYZY

lata 1758—1953

БИБЛИОГРАФИЯ МИКОРИЗЫ

с 1758 по 1953 год

INDEX OF LITERATURE ON MYCORRHIZA

1785—1953

1. Aali B. C. T.: Über die Mycorrhiza der Buche, *Allg. Forst. u. Jagdztg.*, **99**: 25—31, 41—52, 1923.
2. Archomejko A.: Kak obezpieczit' lesoposadki mikorizoj, *Soc. ziemledielje*, 68 (52 51), 1949.
3. Adamowicz D. A.: Wlijanje mikorizy na rost sosnowych kultur, *Lesnoje choziajstwo*, 15, 1935.
4. Addoms R. M.: *Plant Physiol.*, **21**: 109—111, 1946.
5. Addoms R. M., Mounce F. C.: Notes on the nutrient requirements and the histology of the cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) with special reference to mycorrhiza, *Plant Physiol.*, **6** : 653—668, 1931.
6. Adinarayana R. K. Casuarina root nodules and nitrogen fixation. (Preliminary contribution), *Yearbook Madras Agric. Dept.*, 60—67, 1924.
7. Albini A. — poz. 748.
8. Aldrich-Blake R. N.: The plasticity of the root system of Corsican pine in early life, *Oxf. Forestry Memoirs*, 12, 1930.
9. Ames O.: Notes on New England orchids, I. *Spiranthes*. *Rhodora*, **23**: 73—85, 1921.
10. Andreae F.: Ueber abnorme Wurzelanschwellungen bei *Ailanthus glandulosa* Rozprawa nie opublikowana, 1894.
11. Andrews H. N.: On mycorrhizome from the Carboniferous of Illinois, *Bull, Torr Bot. Club*, **70** : 120—125, 1943.
12. Angles G. K.: A review of the literature an stockscion in compatibility in fruits trees with particular reference to pome and stone fruits, 1937.
13. Anonymus: Establishing pines. Preliminary observations on the effects of soil inoculation, *Rhodesia Agr. J.*, **28**, 1931.
14. Arcularius J.: Zytologische Untersuchungen an einigen endotrophen Mycorrhizen, *Zblatt. Bact.*, II, **74** : 191—207, 1928.
15. Ardle MC R. E.: The relation of mycorrhizae to conifer seedlings, *Jour. Agr. Res.*, **44** : 287—316, 1932.
16. Armand D. — poz. 189.
17. Arzberger E. G.: The fungous root-tubercles of *Ceanothus americanus*, *Eleagnus argentea* and *Myrica cerifera*, *Ann. Rep. Missouri Bot Gard.*, **21** : 60—102, 1910.
18. Asai T.: Über das Vorkommen und die Bedeutung der Wurzelpilze in den Landpflanzen, *Japan. Journ. Bot.*, **7** : 1—2, 107—150, 1934.
19. Ashe W. W.: Loblolly or North Carolina pine. *North Carolina. Geol. Econ. Surv. Bull.*, **24**; 1915.
20. Atkinson G. F.: The genus *Frankia* in the United States, *Torr. Bull.*, **19** : 171—177,, 1892.

21. Auret T. B.: Observations on the reproduction and fungal endophytism of *Lunularia cruciata* (L.) Dumortier. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **15** : 163—176, 1930.
22. Baas-Becking L. G. M.: The origin of the vascular structure in the genus *Botrichium*, with notes on the general anatomy. *Rec. Trav. bot. Neederland*, **18**:333—372, 1921.
23. Baillou M. — poz. 28.
24. Baillou P.: Recherches sur les cercles mycéliens (rond de fées), *Act. Soc. Linnéenne*, 61 sér. **1**, **1** : 62—88, Bordeaux 1906.
25. Bain H. F.: Production of synthetic mycorrhiza in the cultivated cranberry, *Jour. Agr. Res.*, **55** : 811—835, 1937.
26. Baldwin I. L. — poz. 290.
27. Balfour E. B.: The Living Soil, London 1948.
28. Balliou G., Balliou M.: The non-symbiotic germination of orchid seeds in Belgium, *Orchid Rev.*, **32** : 305—308, 1924.
29. Baraniej A. B.: Wlijanje mikorizy na rost i sostojanje duba, *Lesnoje choz-wo*, **6** : 31, 1939.
30. Baraniej A. B.: Opyty wniesienja mikoriznych gribow w poczwu, *Lesnoje chozwo*, **10** : 45, 1940.
31. Barret J. T.: Observation on the root endophyte, *Rhizophagus*, in culture. Abstr. in *Phytopath.*, **37** : 359—360, 1947.
32. Barrows F. L.: Propagation of *Lycopodium*. II. The endophytic fungus in gametophyte and sporophyte, *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **7** : 295—300, 1935.
33. Barrows F. L.: Propagation of *Lycopodium* III. Spore germination, *Contr. Boyce Thompson Inst.* **8** : 233—236, 1936.
34. Barrows F. L.: Propagation of *Epigaea repens* L., II. The endophytic fungus, *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **11** : 431—440, 1941.
35. Barsali E.: Sulle formazioni tuberose nella *Serapias lingua* L., *Atti. Soc. Toscana Sci. Nat. Proc. verb.*, **30** : 34—37, 1921.
36. Barsali E.: Contribuzione allo studio dei rapporti delle micorize ectotrofiche di alcune essenze arboree, *Atti. Soc. Toscana Sci. Nat., Proc. verb.*, **31** : 16—20, 1922.
37. Bary De.: Die Erscheinung der Symbiose, Strassburg, 1879.
38. Beau C.: Sur les rapports entre la tubérisation et l'infestation des racines par des champignons endophytes au cours du développement du *Spiranthes autumnalis*, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **157** : 512—513, 1913.
39. Beau C.: La symbiose fungique des orchidées et l'adaptation à la vie xérophile, *Rev. Scient.*, **52** : 109—112, 1914.
40. Beau C.: Sur le rôle trophique des endophytes d'Orchidées, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **171** : 675 : 677, 1920.
41. Beauverie P.: Etude d'une Hépatique à thalle habité par un champignon filamenteux, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **134**, 616—618, 1902.
42. Benike Ł. A.: Ob endotrofnoj mikorizie u *Orchidaceae, Pirolaceae* i *Ophioglossaceae, Tr. O-wa Ispyt. Prir. Charkow. Uniw.*, **43** : 1—32, 1910.
43. Bergamaschi M.: Contributo allo studio dei funghi endofiti di Epatiche, *Atti Inst. Bot. Univ. Pavia*, Ser. IV, **111**, 185—221, 1932.
44. Berggren S.: Om rotbildning hos australa coniferer, *Bot. Not.*, 144—146, 1887
45. Berkeley G. H.: Root rots of the raspberry, *Canad. Jour. Res.*, **14**:306—317, 1936
46. Berkeley G. H.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **16**:43, 1937.
47. Berkeley M. J.: Fungi. The English Flora of Sir James Edward Smith, 5. Part II, Longmans, London 1837.

48. Bernard N.: Sur la germination de *Neottia nidus avis*, *Comp. rend. Acad. Sci*, **128**:1253—1255, 1899.
49. Bernard N.: Sur les tuberculisations précoces chez les végéteaux. *Comp. rend. Acad. Sci.*, **131**:626—629, 1900.
50. Bernard N.: Sur quelques germinations difficiles, *Rev. gen. Bot.*, 12 : 108—120, 1900.
51. Bernard N.: Sur la tuberculisation de la pomme de terre. *Comp. rend. Acad. Sci.*, **132** : 355—357, 1901.
52. Bernard N.: Conditions physiques de la tubérisation chez les végéteaux, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **135** : 706—708, 1902.
53. Bernard N.: Études sur la tubérisation, *Rev. gen. Bot.*, **14** : 5—25, 1902.
54. Bernard N.: Mécanismes physiques d'actions parasitaires, *Bull. Soc. Linnéenne Normandie*, Sér. V, **6** : 127—144, 1902.
55. Bernard N.: Le champignon endophyte des Orchidées, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **138** : 828—830, 1904.
56. Bernard N.: Nouvelles espèces d'endophytes d'Orchidées, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **140** : 1905, 1272—1273, 1905.
57. Bernard N.: Symbiose d'Orchidées et de divers champignons endophytes, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **142** : 52, 1906.
58. Bernard N.: La culture des Orchidées dans ses rapports avec la Symbiose, *Soc. Roy. d'Agric. Bot.*, 1908.
59. Bernard N.: L'évolution dans la symbiose d'Orchidées et leurs champignons commensaux, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **9** : 1, 1909.
60. Bernard N.: Remarques sur l'immunité chez les plantes, *Bull. Inst. Pasteur* **7** : 369—386, 1909.
61. Bernard N.: Les mycorrhyzes des *Solanum*, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **14** : 235, 1911.
62. Bernatsky J.: Beiträge zur Kenntniss der endotrophen Mycorrhisen, *Tesmeszetragzi Filigetek*, Budapest, 1899.
63. Bernatsky J.: Über Mycorrhisengebilde. *Tesmeszetragzi Filigetek*. Budapest 1900.
64. Bieriozowa E. F.: Rol mikroorganizmow w pitanii rastienij w swietle pierfiedowoj agrobiologiczeskoj nauki, *Sow. agronom.*, **11**, 1950.
65. Biraghi A.: Ricerche sulla microflora radicola del grano, *Boll. Rom. Staz. Patol. Veg.* n. s., **16** : 147—154, 1936.
66. Birch T. T. C.: A synopsis of forest fungi of significance in New Zealand, *New Zealand J. Forestry*, **4** : 17, 1937.
67. Bizzel J. A. — poz. 536.
68. Björkman E.: Om inverkau av ammoniumnitrat pa granmykorrhizans utbildning i råhumusmark, *Medd. Stat. skogsförs-anst*, **30** : 631, 1937.
69. Björkman E.: Om mykorrhizans utbildning hos talloch granplantor, odlade i näringsrika jordar vid olika kvävetillförsel och ljüstillgang. *Medd. Staat. Skogs Förs.-anst.*, **32** : 23—74, 1940.
70. Björkman E.: Mycorrhiza in Pine and Spruce Seedlings grown under varied Radiation Intensities in rich Soils with or without Nitrate added. Medd. 7. *Staatens Skogs-Försöksanstalt*, Stockholm 1940—41.
71. Björkman E.: Mykorhizans utbildning och frekvens hos skogsträd pa askgödslade och ogödslade delar av dikad myr. (Die ausbildung und Frequenz der Mykorrhiza in mit Asche gedungten und ungedungten Teilen von entwässerten Moor), *Medd. Staat. Skogs-Försöksanstalt*, **32** : 225—296, 1940—41.

72. Björkman E.: Über die Bedingungen der Mykorhizabildung bei Kiefer und Fichte, *Symp. Bot. Upsalienses,* **6** : 2, 1942.
73. Björkman E.: Om skogsplanteringens mark-biologiska förntsättingar, *Svenska Skogswårdesfören. Tidskr.,* **42** : 333—355, 1944.
74. Björkman E.: The effect of strangulation on the formation of myccorhiza in pine, *Svensk Botanisk Tidskrift,* **38** : 1, 1944.
75. Blaringhem L.: Gaston Allard et l'acclimatation grace à la symbiose, Paris 1937.
76. Bolleter E.: *Fegatella conica* (L.) Corda. Eine morphologisch — physiologische Monographie, *Beih. Bot. Centralbl.,* **18** : 327—408, 1905.
77. Borm L.: Die Wurzelknöllchen von *Hippophaë rhamnoides* und *Alnus glutinosa. Bot. Arch.,* **31** : 441—488, 1931.
78. Bornebusch C. H. Studier over Rodaellens Livskrav og dens Optraeden i Danmark, *Tidskr. Skovvaesen,* **26** : 28—100, 1914.
79. Bose S. R.: Suspected symbiosis in *Casuarina equisetifolia* tree wg *Proc. Indian Sci. Congr.,* Part III; 45, 1943.
80. Bose S. R.: Hereditary (seed-borne) Symbiosis in *Casuarina equisetifolia* Forst, *Nature,* **159** : 513, 1947.
81. Bottomley W. B.: The structure of root tubercles in leguminous and other plants, *Rep.* **76***-th Meet. B. A. A. S.,* 693, 1907.
82. Bottomley W. B.: The root nodules of *Myrica gale, Ann. Bot.,* **26** : 111—117, 1912.
83. Bottomley W. B.: The root-nodules of *Ceanothus americanus, Ann. Bot.,* **29** : 605—610, 1915.
84. Boudier E.: Du parasitisme probable de quelques espéces du genre *Elaphomyces* et de la recherche de ces tubéracées, *Bull. Soc. Bot. France,* **23** : 115—119, 1876.
85. Bouget C. — poz. 573, 574.
86. Bouget J.: poz. 176, 572, 573, 574, 575.
87. Boulet-Vital: Sur les mycorrhizes endotrophes de quelques arbres fruitiers. *Comp. rend. Acad. Sci.,* **150** : 1190—1192, 1910.
88. Bouwens H.: Investigations about the Mycorhiza of Fruit-Trees, especially of Quince *(Cydonia vulgaris)* and Strawberry Plants *(Fragaria vesca), Zblatt. Bakt.* II, **97** : 34—49, 1937.
89. Boyer G.: Sur l'existence et les principaux caractères du mycélium des champignons qui paraissent en être dépourvus et en particulier de celui des tubéracées, *Actes Soc. linn. Bordeaux, Proc. Verb.,* **69** : 94—97, 1915.
90. Bréal E.: Alimentation des végétaux par l'humus et les matières organiques. *Ann, Agronom.,* **20** : 353—370, 1834.
91. Brenchley W. E., Thornton H. G.: *Proc. Roy. Soc.,* London, B, **98** : 373—399, 1925.
92. Brian P., Hemming H., Mc Gowan J.: Origin of toxicity to mycorrhiza in Wareham heath soil, *Nature,* **155** : 637—638, 1945.
93. Brown: Nature, **157** : 65—69, 1946.
94. Brachmann H.: Ueber Anlage und Wachstum der Wurzeln von *Lycopodium* und *Isoetes, Zeitschr. Naturwiss.,* **8** : 522—580, 1874.
95. Bruchmann H.: Das Prothallium von *Lycopodium, Bot. Centralbl.,* **21** : 23—28, 1885.
96. Bruchmann H.: Untersuchungen über *Selaginella spinulosa,* Gotha, A. Perthes, 1897.

97. Bruchmann H.: Über das Prothallium und die Keimpflanze von *Ophioglossum vulgatum*, *Bot. Zeitschr.*, **62** : 227—248, 1904.
98. Bruchmann H.: Über das Prothallium und die Sporenpflanzen von *Botrichium lunaria* S w., *Flora*, **96** : 203—230, 1906.
99. Brunchorst J.: Die Structure der Inhaltskörper in den Zellen einiger Wurzelanschwellungen, *Bergens Museums Aars beretning*, 233—247, 1886.
100. Brunchorst J.: Über einige Wurzelanschwellungen, besonders diejenigen von *Alnus* und den *Eleagnaceen*. *Untersuch. Bot. Inst. Tübingen*, 2, 1886—1888.
101. Bultel G.: Note sur la germination des graines d'Orchidée à l'aide du champignon endophyte, *Journ. Soc. Hort. France*, **21** : 434, 1920.
102. Burbidge N. T.: Root development in *Pinus pinaster* and the seasonal variation in its mycorrhizae, *Austral. Forestry*, **1** : 33—40, 1936.
103. Burgeff H.: Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze, Fischer, Jena 1909.
104. Burgeff H.: Zur Biologie der Orchideen mycorrhiza, Jena 1909.
105. Burgeff H.: Die Pilzsymbiose der Orchideen, *Naturwiss. Wochenschr.*, N. S. **9** : 129—134, 1910.
106. Burgeff H.: Die Anzucht tropischer Orchideen aus Samen, Jena 1911.
107. Burgeff H.: Symbiose. Handwörterbuch der Bioch. d. Naturwiss., IX, 920—958, Jena 1913.
108. Burgeff H.: Organisation und Entwicklung tropischer Orchideensaprophyten (Vorläufige Mitt.), *Berichte. Deut. Bot. Ges.*, **49** : 46—48, 1931.
109. Burgeff H.: Saprophytism und Symbiose. Studien an tropischen Orchideen, G. Fischer, Jena 1932.
110. Burgeff H.: Pflanzliche Avitaminose und ihre Behebung durch Vitaminzufuhr, *Berichte Deut. Bot. Ges.*, **52** : 384—390, 1934.
111. Burgeff H.: Saprophytismus und Symbiose, Jena 1936.
112. Burgeff H.: Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen, Jena 1936.
113. Burgeff H.: Mycorhiza (Manual of Pteriodology, Edit. by T. Verdoorn), Hague 1938.
114. Burgeff H.: Problematik der Mykorrhiza. *Naturwissenschaften*, **47/48** : 558—567, 1943.
115. Burges A.: On the significance of mycorrhiza, *New Phytol.*, **35** : 117—131, 1936.
116. Burges A.: Soil fungi and root infection, a review, *Broteria, ser. sci. nat.* 25 fasc. **2** : 18, 1939.
117. Burges A.: The defensive mechanism in orchid mycorrhiza, *New Phytol.* **28** : 273—283, 1939.
118. Burges A. — poz. 529, 530.
119. Burström H.: On formation effects of carbohydrates on root growth, *Bot. Not.*, 310—334, 1941.
120. Busich E.: Die endotrophe Mykorhiza der *Asclepiadaceae*, *Verhandl. Zool.-Bot. Ges.*, Wien, **63** : 240—264, 1913.
121. Butler E. J.: The occurence and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi, *Trans. Brit. Mycol Soc.*, **12** : 274—301, 1939.
122. Butler E. J.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **18** : 468, 1939.
123. Büsgen M.: Einiges über Gestalt und Wachstumsweise der Baumwurzeln, *Allg. Forst.-Jagdzeit.*, **77** : 273—278, 305—309, 1901.
124. Camara P. J.: La „maladie des Châtaigniers." Gangréne humide de la racine

du Châtaignier. Étude préliminaire, *Bull. Soc. Portugaise Sci. Nat.*, **1** : 55—79, 1907.

125. Campbell D. H.: Studies on the *Ophioglossaceae, Ann. Jardin Bot. Buitenzorg*, Sér. 2, **6** : 140—194, 1907.
126. Campbell D. H.: Symbiosis in fern prothallia, *Amer. Nat.* **42** : 154—165, 1908.
127. Campbell D. H.: The gametophyte and embryo of *Botrichium obliquum Mühl. Ann. Bot.*, **35** : 141—158, 1921.
128. Cappelletti C.: Sull'azione dei prodotti del ricambio di miceli microzozeni sulle piante ospiti. Ricerche fisiologiche e morfologiche. *Ann. Bot.*, **19** : 1—62, 1931.
129. Cappelletti C.: *Rend. R. Accad. Lincei*, Ser. 6, **13** : 937, 1931.
130. Cappelletti C.: ref. *Rev. Appl. Myc.* **11** : 528, 1932.
131. Carlson M. C.: Origin and development of shoots from the tips of roots of *Pogonia ophioglossoides, Bot. Gaz.*, **100** : 215—225, 1938.
132. Castan R.: Recherches sur les conditions des stolons de pomme de terre, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **135** : 578—580, 1941.
133. Cavara F.: Intorno alla morfologia e biologia di una nova specie di Hymenogaster, *Atti. R. Ist. Bot. Univ., Pavia*, **3** : 211—230, 1893.
134. Cavers F.: On saprophytism and mycorrhiza in Hepaticae, *New Phytol.*, **2** : 30—35, 1903.
135. Ceillier R.: Recherches sur les facteurs de la répatriation et sur le rôle des mycorhizes, 1912, wg *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **8** : 51, 1922.
136. Cernik L.: Krankheiten und teratologische Missbildungen an Pflanzen der Olmutzer Flora, *Verh. Naturf. Ver. Brunn*, **68** : 49—78, 1937.
137. Chalaud G.: Mycorhizes et tubérisation chez *Sewardiella tubifera Kashyap, Ann. Bryol.*, **5** : 1—16, 1932.
138. Chandhuri H.: Studies in the physiology of the fungal endophytes of certain Indian liverworts, *Ann. Bryol.*, **8** : 47—56, 1935.
139. Chandler R. F. jr.: The amount and mineral nutrient content of freshly fallen leaf litter in the hardwood forests of central New York, *Jour. Amer. Soc. Agron.*, **33** : 859—871, 1941.
140. Chapman A. G: Tolerance of short-leaf pine seedlings for some variations in soluble calcium and H-ion concentrates, *Plant Physiol.*, **16** : 316—326, 1941.
141. Chaze J.: L'ivraie enivrante et la culture pure de son endophyte, *Com. rend. Acad. Sci.*, **203**; 1936.
142. Chodat R., Lendner A.: Sur les mycorhizes du *Listera cordata, Bull, Herbier Boissier*, **4** : 265—272, 1896.
143. Christoph H.: Untersuchungen über die mycotrophen Verhältnisse der „Ericales" und die Keimung von Pirolaceen, *Beih. Bot. Zentralbl.* I Abt., **28** : 115—157, 1921.
144. Chudiakow J. P., Wozniakowska J. M.: Czistyje kultury mikoriznych gribow, *Mikrobiologja*, **20** : 13—19, Moskwa 1951.
145. Ciferri R.: Preliminary observations on sugar cane mycorrhizae and their relationship to root diseases, *Phytopath.*, **18** : 249—261, 1928.
146. Clement E.: The non-symbiotic germinaton of orchid seeds, *Orchid.Rev.*, **32** : 359—365, 1924.
147. Clifford J. B.: The mycorrhiza of *Tipularia unifolia. Torr. Bull.*, **26** : 635—638, 1899.
148. Cobb C.: The forests of North Carolina, *The North Carolina Booklet*, **12** : 136—157. 1916.

149. Cockayne L.: Professor E. H. Wilson on New Zealand forests and forestry. *New Zealand Jour. Sci. Techn.*, **6** : 218—222, 1923.
150. Coleman D. G. *Sarcosiphon rodwayi* in Australia, *Victorian Nat.*, **52** : 163—166, 1936.
151. Colla S.: Sulla micorize di *Dryas octopetala L.*, *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.* **70** : 160 - 161, 1931.
152. Colla S.: Relazioni tra alcuni basidiomiceti e la radici di alberi ed arbusti di foreste (Nota preventiva), *Atti Soc. Ital. Sci. Nat.*, **70** : 164—167, 1931.
153. Comb A. L. Mc.: The relation between mycorrhizae and the development and nutrient absorption of pine seedlings in a prairie nursery, *Journ. Forestry*, **36** : 1148—1154, 1938.
154. Comb A. L.: Mycorrhizae and phosphorus nutrition of pine seedling in a prairie soil nursery, *Jawa Agr. Exp. Sta. Res. Bull.*, **314** : 582—612, 1943.
155. Comb A. L., Griffith: *Plant Physiol.*, **21** : 11—17, 1946.
156. Comb A. L., Loomis W. E.: Subclimax prairie, *Torr. Bull.*, **71** : 46—76, 1944.
157. Cooper W. S.: The broad sclerophyll vegetation of California. An ecological study of chaparral and its related communities. *Carnegie Inst. Washington Publ.*, **319** : 124, 1922.
158. Corgemay H. J.: Sur une fonction spéciale des mycorhizes des racines latérales de la Vanille, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **138** : 391—393,1904.
159. Cortesi F.: Sulle micorize endofiche con particolare riguardo a quelle delle Orchidee. Nota preliminara, *Atti Soc. Ital. Progr. Sci.*, **5** : 860—864, 1912.
160. Costantin J. K.: Sur la biologie du *Goodyera repens*. *Rev. Gen. Bot.*, **32** : 529—533, 1920.
161. Costantin J. K.: Sur l'hérédité acquise, *Comp. rend Acad. Sci*, **174** : 1659—1662, 1922
162. Costantin J. K.: Remarques sur les relations des arbres avec les champignons souterrains, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **178** : 158—161, 1924.
163. Costantin J.: *Rev. Bot. Appl.* IV, **36** : 497, 1924.
164. Costantin J. K.: Remarques sur les cultures asymbiotiques, *Rev. Path. Vég. Ent. Agric.*, **12** : 191—200, 195.
165. Costantin J. K.: Contribution à l'étude des racines des plantes alpines et de leurs mycorhizes, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **182** : 26—29, 1926.
166. Costantin J. K.: *Comp. rend. Acad. Sci.*, **196** : 315, 1933.
167. Costantin J. K.: Production expérimentale de mycorhizes chez la pomme de terre, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **198** : 1195—1197, 1934.
168. Costantin J. K.: Sur les mycorhizes de la pomme de terre, *Ann. Sci. Nat., X, Bot.*, **17** : 37—50, 1935.
169. Costantin J.: La variété Dauzère de la pomme de terre de *Roquelaure* (Gers), *Comp. rend. Acad. Sci.*, **201**; 1935.
170. Costantin J. K.: Cultures asymbiotiques du *Psilotum triquetrum*, *Ann. Sci. Nat., X, Bot.*, **18** : 93—94, 1936.
171. Costantin J. K.: Faits nouvellement découverts par M. Joseph Bouget concernat la pomme de terre, *Comp. rend. Acad. Agr. France*, **22** : 118—128, 1936.
172. Costantin J., Dufour L.: Recherches sur les relations du pin sylvestre et du Bolet granulé, *Ann. Sci. Nat., X, Bot.*, **9** : 271—280, 1927.
173. Costantin J., Magrou J.: *Ann. Sci. Nat., X, Bot.*, **17** : 37, 1935.
174. Costantin J., Magrou J.: *Rev. Appl. Mycol.*, **14** : 602, 1935.
175. Costantin J., Magrou J.: *Rev. Path. végét.*, **22** : 60, 1935.

176. Costantin J., Magrou J., Bouget J., Jaudel V.: *Comp. rend. Acad. Sci.* **198**: 1195, 1933.
177. Coville F. V.: Experiments in blueberry culture, *U. S. D. A., Burr. Plt. Ind. Bull.*, **193**; 1910.
178. Coville F. V.: The Lychee *(Litchi chinensis)*, a mycorrhizal plant. Wg G. W. Groff: The Lychee and Lungan, 1921.
179. Cribbs J. E.: Early stem anatomy of *Todea barbara. Bot. Gaz.*, **70**: 279—294, 1920.
180. Cromer D. A. N.: The significance of the mycorrhiza of *Pinus radiata*, Canberra, Johnston, 1935.
181. Curtis J. T.: Non-specificity of orchid mycorrhizal fungi, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **36**: 43—44, 1937.
182. Curtis J. T.: The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problems of symbiosis, *Amer. Jour. Bot.*, **26**: 390—398, 1939.
183. Curtis J. T.: Germination and seedling development in five species of *Cypripedium* L, *Amer. Jour. Bot.*, **30**: 199—205, 194.
184. Czapek F.: Biochemie der Pflanzen, 1920.
185. Czastuchin W. J.: Ekołogiczeskij analiz raspada rastitielnych ostatkow w mołodych sosnowych nasażdienjach, *Poczwowiedienje*, **2**: 87, 1948.
186. Czastuchin W. J.: Puti wniesienja mikorizoobrazujuszczich gribow w lesnyje połosy, *Priroda*, **4**: 35, 1950.
187. Dale W. T. — poz. 492, 493.
188. Dangeard P.: Sur un nouveau cas remarquable de symbiose, *Le Botaniste*, 182—187, 1894—1895.
189. Dangeard P. A. C., Armand L.: Observation de biologie cellulaire, Mycorhizes d'*Orchys arachnifera, Rev. Appl. Myc.*, **20**: 13—18, 1898.
190. D'Angremond A., van Hell W. F.: Mycorrhiza van *Hevea brasiliensis* Müll., *Versl. Ver. Proefst. — Persneel, Medan*, Sumatra, 1939.
191. Darnell-Smits G. P.: The gametophyte of *Psilotum. Trans. Roy. Soc. Edinb.*, **52**: 79—92, 1918.
192. Dawson R. T. — poz. 832.
193. Davies A. R. — poz. 248.
194. Delacroix G.: La „Maladie des Châtaigniers" en France, *Bull. Soc. Mycol. France*, **13**: 242—252, 1897.
195. Demeter K.: Über „Plasmoptysen" — Mykorrhiza, *Flora*, **116**: 405—456, 1923.
196. Denis M.: Sur quelques thalles d'*Aneura* dépourvus de chlorophylle, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **168**: 64—66, 1919.
197. Derx W. G.: Tentative de synthèse d'une symbiose, *Ann. Sci. Nat., X, Bot.*, **19**: 155—166, 1937.
198. Dittrich G.: Über Auftreten und Wachstumsbedingungen von höheren Pilzen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **41**: 128—134, 1923.
199. Doak K. D.: Mycorrhiza bearing species in the vicinity of Lafayette, *Proc. Indiana Acad. Sci.*, **37**: 427—439, 1927.
200. Doak K. D.: Fungi that produce ectotrophic mycorrhizae of conifers, *Phytopath.*, **24**: 7, 1934.
201. Doak K. D. — poz. 364, 490.
202. Doerell E. J. — poz. 906.
203. Dominik T.: Zagadnienie mykorhizy w świetle historii badań (Mykorhizaproblem in der historischen Entwicklung). *Kosmos s. B.* **10**: 60, 1935.

204. Dominik T.: Znaczenie mykorhizy dla aklimatyzowanych drzew leśnych (Über die Bedeutung der Mykorhiza für die aklimatisierten Waldbäume), *Przyroda i Technika*, **15** : 5, 1936.

205. Dominik T.: Badania nad mykorhizą niektórych drzew iglastych aklimatyzowanych w Polsce (Recherches sur les mycorrhizes de quelques Conifères acclimatés en Pologne), *Roczn. Nauk. Roln. Leśn.*, **36**, 1936.

206. Dominik T.: Znaczenie mikroflory glebowej dla rozwoju sadzonek sosnowych (Bedeutung der Bodenmikroflora für die Kiefernsämlingen), *Przegląd Leśniczy*, 1946.

207. Dominik T.: Występowanie mykorhizy u dzikich drzew owocowych rosnących w lesie (Les mycorrhizes chez les arbres fruitiers qui végètent sous la futai), *Acta Soc. Botan. Polon.*, **19** : 169—185, 1948.

208. Dominik T.: Przyczynek do znajomości mykorhizy u wiąza polnego (Contribution à la connaissance du mycorhize chez l'orme champêtre), *Acta Soc. Botan Polon.*, **19** : 189—193, 1948.

209. Dominik T.: Badania mykotrofizmu dzikich grusz na terenie Polski z uwzględnieniem warunków bioekologicznych (Recherches sur les mycorhizes des poiriers sauvages en ses biocenoses variée en Pologne), *Acta Soc. Botan. Polon.*, **20** : 225—303, 1949/50

210. Dominik T.: Modrzew w lasach czerniejewskich pod Gnieznem i dynamika rozwojowa jego mykorhizy (Le mélèze dans les forêts de Czerniejewo près de Gniezno et la dinamique du developpement des ses mycorhizes). *Acta Soc. Botan. Polon.*, **20** : 305—330, 1949/50.

211. Dominik T.: Zagadnienie mykorhizy w leśnictwie. *Sylwan*. Warszawa 1949/50

212. Dominik T.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **29** : 167, 1950.

213. Dominik T.: Badanie mykotrofizmu roślinności wydm nadmorskich i śródlądowych (Recherches sur le mycotrophisme des associations végétales sur les dunes du littoral de la mer et sur les dunes continentales), *Acta Soc. Botan. Polon.*, **21** : 125—164, 1952.

214. Dominik T.: O roli mykorhizy w życiu niektórych drzew leśnych, *Las Polski*, **26** : 5—8, 1952.

215. Dominik T., Jagodziński St.: Badania nad mykorhizą niektórych drzew owocowych w ogrodach kórnickich (Researches on mycorrhiza of some fruit-trees in Kórnik-Gardens), *Pam. Zakł. Bad. Drzew i Lasu*, **1** : 1—30, Kórnik, 1946.

216. Dominik T.: Jagodziński S.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **26** : 462, 1947.

217. Dominik T., Kowalska H.: Zagadnienie mykorhizy w sadownictwie. *Przegl. Ogrod.* z. 7—8, Kraków, 1949.

218. Dominik T., Truszkowska W.: Przyczynek do znajomości mykorhizy u niektórych paproci (Contribution aux études des mycorhizes des quelques fougères). *Acta Soc. Botan. Polon.*, **18** : 45—63, 1947.

219. Dominik T., Truszkowska W.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **27** : 535, 1948.

220. Dorochowa N. A.: O mikotrofnom pitanii pszenic. *Dokl. Mosk. Sielchoz. Akad. im. Timiriażiewa*, **7** : 24, 1948.

221. Douchet I. — poz. 576.

222. Dougal Mac. D. T.: Symbiotic saprophytism, *Ann. Bot.*, **13** : 1—47, 1899.

223. Dougal Mac. D. T.: Roots and mycorrhizas of some *Monotropaceae*, *Bull. New York Bot. Gard.*, **1** : 419—429, 1900.

224. Dougal Mac. D. T.: Study of symbiosis of Monterey pine with fungi, *Yearb. Amer. Phil. Soc.*, 170—174, 1943.

225. Dougal D. T., Dufrenoy J.: Mechanism of mycorrhiza of pine roots, *Yearb. Amer. Phil. Soc.*, 1943.
226. Dougal D. T., Dufrenoy J.: Mycorrhizal symbiosis in *Aplectrum, Corallorhiza* and *Pinus, Plant Physiol.*, **19** : 440—465, 1944.
227. Dougal D. T. Mc, Dufrenoy J.: Criteria of nutritive relations of fungi and seed plants in mycorrhiza, *Plant Physiol.*, **21** : 1—10, 1946.
228. Dougall Mac.: Symbiotic saprophytism, *Ann. Bot.* **23**, 1899.
229. Dougall Mac.: The classification of symbiotic phenomena, *The Plant World*, **21** : 250—256, 1913.
230. Dougall W. B. Mac.: On the mycorrhiza of forest trees, *Am. Journ. Bot.*, **1** : 51—74, 1914.
231. Dougall Mac.: The growth of forest trees roots, *Am. Journ. Bot.*, **3** : 384, 1916.
232. Dougall Mac.: Symbiosis in a deciduous forest, *Bot. Gazete*, **73** : 200, 1922.
233. Dougall Mac.: Mycorrhiza of Coniferous Trees, *Journ. Forestry*, **20** : 3, 1922.
234. Dougall Mac.: Mycorrhiza of forest trees, *Journ. Forestry*, **20** : 255, 1922.
235. Dougall W. B. Mac.: Mycorrhizas from North Carolina and eastern Tennessee, *Am. Journ. Bot.*, **1** : 141, 148, 1928.
236. Dougal W. B. Mc., Jacobs M. S.: Tree mycorrhizas from the central Rocky Mountain region, *Am. Journ. Bot.*, **14** : 226—258, 1927.
237. Dougall Mc. W. B., Liebtag C.: Symbiosis in a deciduous forest. III. Mycorrhizal relations, *Bot. Gaz.*, **86** : 226—234, 1928.
238. Douliot H. — poz. 932.
239. Downie D. G.: On the germination and growth of *Goodyera repens, Trans. Bot. Soc. Edinburgh*, **33** : 36—51, 1940.
240. Downie D. G.: Source of the symbiont of *Goodyera repens*, *Trans. Bot. Soc. Edinburgh*, **33** : 383—390, 1943.
241. Drude O.: Die Biologie von *Monotropa hypopitys* und *Neottia nidus avis* L. unter vergleichender Hinzuziehung anderer Orchideen, Von der Philos, Göttingen 1873.
242. Ducomet V.: Theorie mycorhizienne et selection, *Ann. Ecole Nat. Agr. Grignon*, **8**, 1923—24.
243. Dufour L. — poz. 172.
244. Dufrénoy I.: The endotrophic mycorrhiza of *Ericaceae*, *New Phytol.*, **16** : 222—228, 1917.
245. Dufrénoy J.: The occurence of Actinomyces — like endotrophic mycorrhiza, *New Phytol.*, **19** : 40—43, 1920.
246. Dufrenoy J.: Sur la tuméfaction et la tubérisation, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **174** : 1725—1727, 1922.
247. Dufrenoy J.: — poz. 225, 226, 227.
248. Duggar B. M., Davies A. R.: Studies in the physiology of the fungi, *Ann. Missouri Bot. Garden*, **3**, 1916.
249. Du Hamel du Monceau H. L.: La physique des arbres, où il est traité de l'anatomie des plantes et de l'économie végétale, H. L. Guérin et L. F. Delatour, Paris 1758.
250. Duthie C. A.: Mycorrhizae of Michigan trees. *Michigan Acad. Sci. Rep.*, **10** : 46. 1908.
251. Eardley C. M.: Investigations on mycorrhiza in South Australia (nie opublikowane), Univ. Adelaide, cytowane wg D. A. N. *Cromer*, 1935.
252. Eastoe H. J.: The mycorrhizal relations of larch. The role of the larch root in the nutrition of *Boletus elegans* Schum, *Ann. Botan.*, 1941.

253. Ebermayer E.: Warum enthalten die Waldbäume keine Nitrate? *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **6** : 217—221, 1888.
254. Ellis D.: Phycomycetous fungi from the English Lower Coal Measures, *Proc. Roy Soc. Edinburgh*, **38** : 130—149, 1917—1918.
255. Emberger L.: A propos du *Lunularia crucila* (L.) Dum. et des formations mycorhiziques des hépatiques, *Bull. Soc. Sci. Nat., Marocco*, **4** : 211—213, 1924.
256. Endrigkeit A.: Beiträge zum ernährungsphysiologischen Problem der Mykorrhiza unter besonderer Berücksichtigung des Baues und der Funktion der Wurzel-und Pilzmembranen, *Botan. Arch.*, **39** : 1—87, 1937.
257. Erdtman H.: Corticrocin, a mycorrhiza pigment, *Nature*, **160** : 331, 1947.
258. Ewenden W. — poz. 869.
259. Faber F.: Untersuchung über die Physiologie der javanischen Solfatarenpflanzen, *Flora*, **118** : 83—110, 1925.
260. Falck R.:Denkschrift die düngerbewohnenden Fadenpilze und die Entstehung der Kohlensäure und Salpetersäure dissimilierenden Humussubstanzen betreffend, *Mykol. Unters. Ber.*, **2** : 11—23, 1923.
261. Flack R.: Nachweise der Humusbildung und Humuszerlegung durch bestimmte Arten höherer Fadenpilze im Waldboden, *Forstarchiv*, **6** : 366—377, 1930.
262. Famincyn A. S.: O roli simbioza i ob ewolucji organizmow, *Tr. S. Peterb. Ob-wa Jestiestwoisp.*, **38** : 41, 1907.
263. Farlane Mac J. M.: A mycorrhiza in the roots of the liliaceous genus *Philesia*. *Bot. Gaz.*, **2** : 106—107, 189.
264. Feilitzen Hj. von.: Kvävemängden i nederbörden, *Sven. mosskulturför. tidskr.* **28** : 272—273, 1914.
265. Ferreira D. S. N: Elementos para o studo das micorizas ectendotroficas do *Pinus pinaster*, *Publ. Serv. Flor. Port.*, **8** : 65—95, 1941.
266. Ferry R.: Espèces acicoles et espèces folicoles, *Rev. Appl. Myc.*, **9** : 42—47, 1887
267. Figdor H.: Ueber *Cotylanthera* Bl. Ein Beitrag zur Kenntniss tropischer Saprophyten, *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg.*, **14** : 213—240, 1897.
268. Finn R. F.: Mycorrhizal inoculation of soil low fertility, *Black Rock Forest Pap.*, **1**:116-117, 1942.
269. Finn R. F. — poz. 637.
270. Fisch C. — poz. 802.
271. Frahm-Leliveld J. A.: A triple stain method for mycorrhiza in root cells, *Natuurw. Tijdschr. Nederl. Indië*, **101**:114-115, 1941.
272. Francke H. L.: Beiträge zur Kenntniss der Mycorrhiza von *Monotropa hypopitys* L. Analyse und Synthese der Symbiose, *Flora*, **129**:1-52, 1934-35.
273. Frank A. B.: Ueber den Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen, *Bot. Zeitschr.* **37** : 377—388, 393—400, 1879.
274. Frank A. B.: Ueber die Ernährung gewisser Bäume durch Pilze, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **3** : 128, 1885.
275. Frank A. B.: Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 3 : 128—145, 1885.
276. Frank A. B: Neue Mitteilungen über die Mycorhiza der Bäume und der *Monotropa hypopitys*, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **3** : 27—33, 1885.
277. Frank A. B.: Sind die Wurzelanschwellungen der Erlen und Eleagnaceen Pilzgallen? *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **5** : 50—58, 1885.
278. Frank A. B.: Ueber neue Mycorrhiza-Formen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **5** : 395—408, 1887.

279. Frank A. B.: Ueber die physiologische Bedeutung der Mykorrhiza, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **6**: 248—268, 1888.
280. Frank A. B.: Ueber den Einfluss, welhen das Sterlisiren des Erdbodens auf die Pflanzenentwicklung ausübt, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **6**: 87, 1888.
281. Frank A. B.: Was nutzen den Waldbäumen die Wurzelpilze? *Forstliche Blätter*, Ser. 3, **13**: 1—7, 1889.
282. Frank A. B.: Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende Symbiose der mit endotrophen Mycorhizen begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erlen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **9**: 244—253, 1891.
283. Frank: *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 1891.
284. Frank A. B.: Lehrbuch der Botanik, 1892.
285. Frank A. B.: Die Ernährung der Kiefer durch ihre Mycorhizapilze, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **10**, 1892.
286. Frank A. B.: Ueber Möllers Bemerkungen bezüglich der dimorphen Wurzelknöllchen der Erbse, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **10**, 1892.
287. Frank A. B.: Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen, *Landwirth. Jahrbuch*, **21**, Berlin, 1892.
288. Frank A. B.: Die Bedeutung der Mycorrhizapilze für die gemeinen Kiefer., *Forstwissensch. Centralbl.*, **38**: 185—130, 1894.
289. Fraser L.: An investigation of *Lobelia gibbosa* and *Lobelia dentata*. **1**. Mycorrhiza, latex system and general biology, *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **56**: 497—525, 1931.
290. Fred E. B., Baldwin I. L., Mc. Coy E.: *Univ. Wisconsin Stud. Sci.*, **5**: 1—343, 1932.
291. Freeman E. M.: The Seed-Fungus of *Lolium temulentum L., Darnel.* Phil. *Trans. Roy. Soc.*, London, Ser. B., **196**, 1903.
292. Freeman E. M.: Symbiosis in the genus *Lolium, Minnesota Bot. Stud.*, **3**: 329—334, 1904.
293. Freisleben R.: Ueber experimentelle Mykorrhiza-Bildung bei den Ericaceen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **51**: 351—356, 1933.
294 Freisleben R.: Zur Frage der Mycotrophie in der Gattung *Vaccinium, Jahrb. Wissensch. Bot.*, **80**: 421—456, 1934
295. Freisleben R.: Weiter Untersuchungen über die Mykotrophie der Ericaceen, *Jahrb. Wissensch. Bot.*, **82**: 413—459, 1935.
296. Frémont T. — poz. 796, 797, 798, 799.
297. Fries N.: Ueber die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. *Symb. Bot. Upsal.*, **3**: 2, 1938.
298. Fries N.: Ueber die Sporenkeimung bei einigen Gasteromyceten und mykorrhizabildenden Hymenomyceten, *Arch. Mikrobiol.*, **12**: 266—284, 1941.
299. Fries N.: Einspormyzelien einiger Basidiomyceten als mykorrhizabildner von Kiefer und Fichte, *Svensk Botan. Tidskr.*, **36**: 2—3, 1942.
300. Fries N.: Untersuchungen über Sporenkeimung und Myzelentwicklung bodenbewohnender Hymenomyceten, *Symb. Bot. Upsal.*, **6**: 81, 1942—43.
301. Fries N.: Die Einwirkung von Adermin, Aneurin und Biotin auf das Wachstum einiger Ascomyceten., *Symb. Bot. Upsal.*, **7**, 1943.
302. Fries N.: Beobachtungen über die thamniscophage Mykorrhiza einiger Halophyten, *Botanska Notiser*, 255—264, Lund, 1944.
303. Frisendahl A.: Om *Ranunculus cymbalaria* Pursh och fynd av densamma i Sverige, *Acta Florae Sueviae*, **1**, 1921.
304. Fron G., Magrou J.: *Compt. rend. Acad. Agric. France*, **26**: 809, 1940

305. Fuchs A.: Aus der Monographie der *Orchis traunsteineri* Saut. V. Die Pilzverdauung der Orchideen *Bot. Arch.*, **6** : 193—206, 1924.
306. Fuchs A.; Ziegenspeck H.: Aus der Monographie des *Orchis traunsteineri* Saut. II. Mycorhiza und Boden., *Bot. Arch.*, **3**, 1923.
307. Fuchs A., Ziegenspeck H.: Bau und Form der Wurzeln der einheimischen Orchideen in Hinblick auf ihre Aufgaben, *Bot. Arch.*, **12** : 290—379, 1925.
308. Fuchs J.: Ueber die Beziehungen von Agaricineen und andere humusbewohnenden Pilzen zur Mycorrhizabildung der Waldbäume, *Biblioth. Botan.*, 76, Stuttgart 1911.
309. Fuchs J.: Beiträge zur Kenntniss des Loliumpilzes. *Hedwigia*, **51** : 221—239, 1911—1912.
310. Fujita M.: Ueber die anatomische Untersuchungen der drogen „Tenmondo" und Wurzelknollen von einigen Asparagusarten., *Journ. Jap. Bot.*, **16** : 668—683, 1940.
311. Fürth P.: Zur Biologie und Mikrochemie einiger *Pirola*-arten., *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien., Math.-Naturw. Kl.* **1**, *Abt.* **1**, **129** : 559—587, 1920.
312. Gallaud J.: De la place systématique des endophytes d'Orchidées, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **138** : 513, 1904.
313. Gallaud J.: Sur la nature des Mycorrhizes endotrophiques, *Comp. rend. Soc. Biol.*, **56** : 307, 1904.
314. Gallaud J.: Études sur les Mycorhizes endotrophes, *Rev. gén. Bot.*, **17** : 5, 66, 123, 313, 423, 479, 1905.
315. Ganieszin S. S.: O swiazi mikorizy sosny i listwiennicy s gimienomicetami, *Zurn. bolezni rast.*, 479—538, 1923.
316. Garde R. V.: Non-symbiotic germination of orchids., *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **16** : 499—514, 1929.
317. Garjeanne A. J. M.: Ueber die Mykorrhiza der Lebermoose, *Beih. Bot. Centralbl.*, **15** : 471—481, 1903.
318. Garret S. D.: Root Disease Fungi, Waltham, 1944.
319. Gasparrini G.: Ricerche sulla natura dei succiatori a la eserezione delle radici..., G. Dura, Naples 1856.
320. Gäumann E.: Vergleichende Morphologie der Pilze, Jena (1926) 1945.
321. Germ H.: Ueber den Mykorrhizaprotoplasten der Orchideen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **52** : 1934.
322. Gibelli G.: Nuovi studii sulla malattia del castagno detta dell'inchiostra, *Mem. Accad. Ist. Bologna*, ser. IV, **4** : 287—314, 1883.
323. Goebel K.: Ueber Prothallien und Keimpflanzen von *Lycopodium inundatum*, *Bot. Zeit.*, **45** : 161—167, 177—190, 1887.
324. Goebel K: Zur Keimungsgeschichte einiger Farne, *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, **7** : 74—119, 1888.
325. Goebel K.: Ueber javanische Lebermoose., *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg*, **9** : 1—40, 1891.
326. Goebel K.: Organographie der Pflanzen, Jena 1898.
327. Goetsche C. M.: Schriften, Aufsätze und Notizen physiologischer Inhalt, *Bot. Zeit.* (Beilage), **16** : 1—41, 1853.
328. Golenkin M. I.: Mykorrhizenähnlichen Bildungen der Marchantiaceen, *Flora* **90** : 209—220, 1902.
329. Gorbunowa N. P.: K mietodikie mikroskopiczeskogo issledowanja mikorizy driewiesnych porod, *Mikrobiologia*, **21** : 561—565, Moskwa 1952.

330. Gordon H. D.: Mykorrhiza in Rhododendron, *Ann. Bot.*, n. s., **1** : 593—613, 1937.
331. Gordon I. G.: Roots of broad-leaved trees. Notes on mycorrhiza and certain other phenomena, *Scott. For. Jour.*, **50** : 109—112, 1936.
332. Gosselin R.: Studies on *Polystictus circinatus* and its relation to the butt-rot of spruce, *Farlowia*, **1** : 525—568, 1944.
333. Grevilius A.: Ueber Mykorrhizen bei der Gattung *Botrychium* nebst Bemerkungen über das Auftreten von Wurzelsprossen bei *Botrychium virginianum, Schw. Flora*, **80** : 445—453, 1895.
334. Greaves J. E., Jones L. W.: The influence of temperature on the microflora of the soil, *Soil Sci.*, **58** : 377—388, 1944.
335. Griffith — poz. 155.
336. Griniewiecki B.: Pamiati prof. Franca Michajłowicza Kamienskogo, *Tr. Botan. Sada Juriewskogo Ins.*, 1912.
337. Groom P.: Contributions to the knowledge of monocotyledonous saprophytes, *Jour. Linn. Soc., London*, **31** : 149—215, London 1894.
338. Groom P.: On *Thismia aseroe* and its Mycorhiza, *Ann. Bot.*, **9**, 1895.
339. Grütter M.: On root nodules of *Juncus tenageia, Schrift. Physik-Oekonom. Ges.*, Königsberg, **65**, 1886.
340. Guinier Ph.: Sur la formation des „Ronds de Sorcière" et le fonctionnement physiologique des mycorhizes ectotrophes. *Ann. Sci. Nat. Bot. X* S., **19** : 291—298, 1937.
341. Günnewig J.: Beiträge zur Kenntnis des Loliumpilzes, *Beitr. Biol. Pflanz.*, **20**, 1933.
342. Halicka E. — poz. 939.
343. Halket: The rootlets of *„Amyelon radicans"*. Will., their anatomy, apices, and endophytic fungus, *Ann. Bot.*, **44** : 865—905, 1930.
344. Hamada M.: Studien über die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* Reichb. Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha, *Japan. Journ. Bot.*, **10** : 151—211, 1939.
345. Hamada M.: Physiologisch — morphologische studien über *Armilaria*... Ein Nachtrag zur Mykorrhiza von *Galeola., Jap. Journ. Bot.*, 1940.
346. Hammarlund C.: *Boletus elegans* Schum. und *Larix*-Mykorrhiza, *Bot. Not.*, 305—326, 1923.
347. Hanna H.: — poz. 418, 1023.
348. Hannig E.: Ueber pilzfreies *Lolium temulentum, Botan. Zeitg.*, **65**, 1907.
349. Hannsteen-Cranner B.: *Meldinger fra Norg. Landsbrukheiskade*, Kristiana 1922.
350. Harley J. L.: Ecological observations on the mycorrhiza of beech (Preliminary note), *Journ. Ecol.*, **25** : 421—423, 1937.
351. Harley J. L.: Beech mycorrhiza, reisolation and the effect of root extracts upon mycelium radicis, *New Phytol.*, **38** : 352—363, 1939.
352. Harley J. L.: Mycorrhiza and soil ecology, *Biol. Rev.*, **23** : 127—159, 1948.
353. Harshberger J. W.: The form and structure of the mycodomatia of *Myrica cerifera, Proc. Acad. Nat. Sci., Philad.*, **55** : 352—362, 1903.
354. Hartig R.: Ueber die symbiotischen Erscheinungen im Pflanzenleben, *Bot. Centralbl.* I, **25** : 350—352, 1886.
355. Hartig R.: Die pflanzlichen Wurzelparasiten, *Allgem. Forst. Jagd Zgt.*, **64** : 118—123, 1888.
356. Hartig R.: Lehrbuch der Baumkrankheiten, 1889.

357. Harwey L. H.: Floral succession in the prairiegrass formation of south-eastern South Dakota, *Bot. Gaz.*, **46** : 81—108, 1908.
358. Hasselbaum G.: Cytologische und physiologische Studien zur ericoiden endotrophen Mycorrhiza von *Empetrum nigrum*. *Bot. Arch.*, **31** : 386—440, 1931.
359. Hatch A. B.: *Phytopathology*, **24** : 10, 1934.
360. Hatch A. B.: A jet-black mycelium forming ectotrophic mycorrhizae, *Svensk Botanisk tidskrift*, **28** : 369—383, 1934.
361. Hatch A. B.: The role of mycorrhiza in afforestation *Journ. Forest.*, **34** : 22, 1936.
362. Hatch A. B.: The physical basis of mycotrophy in *Pinus*. *Black Rock Forest Bull.*, No 6, 168, 1937.
363. Hatch A. B., Comb Mc A. L.: *Annual Rep. Wisconsin Agr. Exp. Sta.*, 1942.
364. Hatch A. B., Doak K. D.: Mycorrhizal and other features of the root systems of *Pinus*, *Journ. Arnold Arb.*, **14**, 1933.
365. Hatch A. A., Hatch C. T.: Some *Hymenomycetes* forming mycorrhizae with *Pinus strobus* L, *Journ. Arnold. Arb.*, **14** : 324—34, 1933.
366. Hatch C. T.: poz. 365.
367. Heath G. H., Luckwill L. C.: The rooting systems of heath plants..., *Journ. Ecol.*, **26** : 331—352, 1938.
368. Heim R.: La maladie de l'apoplexie du Giroflier à Madagascar, *Comp. rend Acad. Agr. France*, **23** : 25—29, 1937.
369. Heinricher E.: Unsere einheimischen *Poligala* arten sind keine Parasiten, *Ber. Naturwiss.-med. Ver.*, Innsbruck, **26** : 109—121, 1900.
370. Hell W. F. van — poz. 190.
371. Hemming H. — poz. 92.
372. Henfrey A.: On the structure and habits of the *Orobanchaceae*, *Ann. Mag. Nat Hist.*, ser. II, **3** : 29—32, 1849.
373. Henry E.: Travaux récents sur les mycorrhizes, *Rev. Eaux, Forêts*, **42** : 641—644. 1903.
374. Henry Le R. K.: Mycorrhizas of trees and shrubs, *Bot. Gaz.*, **94** : 791—800, 1933.
375. Henry Le R. K. Mycorrhizas of deciduous trees, *Proc. Penn. Acad. Sci.*, **6** : 121—124, 1934.
376. Henry Le R. K.: Mycorrhizas of Wading River region. *Torreya*, **34** : 111—115, 1934.
377. Henry Le R. K.: Mycorrhizae from the Unita Basin, *Ann. Carnegie Mus.*, **25** : 63—70, 1936.
378. Henschel G: Ist die zu Mykorrhizabildungen rührende Symbiose an jungen Fichtenpflanzen schädlich? *Oesterr Vierteljahresschr. Forstwesen.*, 113—118, 188?
379. Hesselink E: Invloed van bergden *(Pinus montana)* op grove den *(Pinus silvestris)*, *Med. Rijksboschbouwproefstation*, **1** : 38—46, 1924.
380. Hesselman H., Melin E.: Studier över Barrtädsplantans utveckling i Råhumus, *Meddel. Statens Skogsförskosanstalt*, **23** : 433—494, 1927.
381. Herter W. G: La aparición del hongo venenoso *Amanita phalloides* en Sudamérica, *Rev. Sudamer. Botan.* (Montevideo), **1** : 119, 1934.
382. Hesselman H.: Om mycorrhizabildningar hos arktiska växter., *Bihang Svenska Vet. Ak.*, Hanlingar, **26** : 1—46, 1900.
383. Hesselman H.: Etudier över barrskogens humustäcke, dess egenskape och beroende av skogsvarden. *Meddel, Statens Skogsförsöksanstalt*, 22 : 169—552, 1926.

384. Hesselman H.: Granens föryngringssvårigheter på örtrik mark och dess orsaker., *Botaniska Notiser,* 413—422, 1939.
385. Hesselman H., Melin E.: Studier över barrträdsplantans utveckling i råhumus, *Meddel. Statens Skogsförsöksanstalt,* **23** : 337—494, 1927.
386. Hildebrand A. A., Koch L. W.: *Canad. J. Res.,* **14** : 11, 1936.
387. Hildebrand A. A., Koch L. W.: ref. *Rev. Appl. Myc.,* **15** : 449, 1936.
388. Hiltner L.: Ueber die Bedeutung der Wurzelknöllchen von *Alnus glutinosa* für die Stickstoffernährung dieser Pflanze, *Landwirtschl. Versuchssta,* **45** : 153—161, 1896.
389. Hiltner L., poz. 688.
390. Hiltner L.: Ueber die Assimilation des freien atmosphärischen Stickstoffs durch im oberirdischen Pflanzenteilen lebenden Mycelien, *Zblt. Bakt.,* II, 5 : 831—837, 1899.
391. Hiltner L.: Beiträge zur Mykorrhizafrage, *Naturw. Zeit. Land.-Forstw.,* **1** : 9—25, 1903.
392. Hitchcock A. E.; Zimmermann P. W.: *Contrib. Boyce Thompson Inst.,* **7** : 447, 1935.
393. Holloway J. E.: Studies in the New Zealand species of the genus *Lycopodium.* Part IV, *Trans. Proc. New Zealand Inst.,* **52** : 193—239, 1920.
394. Hori S.: Seed infection by smut fungi of cereals, *Bull. Imp. Centr. Agr. Exper. St. Japan,* **5** : 163—176, 1906.
395. Horn Kr.: Mycorrhizasopp som hekseringdanner, *Friesia Nord. Mycol. Tidskr.,* **1** : 81—83, 1933.
396. How J. E.: The mycorhizal relation of larch, *Ann. Bot.,* **5** : 121—123, **6** : 103—129, 1941.
397. Howard A.: Mein landwirtschaftliches Testament, Siebeneichenverlag, Berlin 1948.
398. Höveler W.: Ueber die Verwerthung des Humus bei der Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen, *Jahrb. wiss. Botan.,* **24** : 283—316, 1892.
399. Huberman M. A.: Normal growth and development of southern pine seedlings in the nursery, *Ecology,* **21** : 323—334, 1940.
400. Humprey H. B.: The development of *Fossombronia longiseta, Austr. Ann. Bot.,* **2** : 83—108, 1906.
401. Isaczenko B. L.: O kłubienkach na korniach *Tribulus terrestris* L., *Izw. S. Peterb. Bot. Sada,* **13** : 24—31, 1913.
402. Isaczenko B. L.: Nowoje w biologii i kulturie orchidiej, *Prirodu,* z. 1—3, 83, 1925.
403. Iwanow L. A.: Ob anatomiczeskom strojenii korniewych okonczanij u sosny, *Izw. Lesnego Ins.,* **30** : 151, 1916.
404. Jackson L. W. R.: Method for differential staining of mycorrhizal roots., *Science,* **105** : 2724, 291, 1947.
405. Jacobs M. C.: poz. 236.
406. Jaczewski A. A.: Osnowy mikologii, Moskwa—Leningrad, 1933.
407. Jagielski A.: Zagadnienie mykorhizy w nauce radzieckiej, *Las Polski,* 25 : 23—25, 1951.
408. Jagodziński St.: poz. 215, 216.
409. Jahn E.: Die peritrophe Mycorrhiza, *Ber. Deut. Bot. Ges.,* **52** : 463—474, 1934.
410. Jahn E.: Die peritrophe Mycorrhiza, *Ber. Deut. Bot. Ges.,* **53** : 847, 1935.
411. Janczewski E.: Recherches sur le développement des radicelles dans les Phanérogames, *Ann. Sci. Nat. Bot.,* sér. V, **2** : 208—233, 1874.

412. Janse J. M.: Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises, *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg,* **14** : 53—201, 1896—1897.
413. Janse J. M.: Quelques mots sur le développement d'une petite truffle, *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg,* **14** : 202—205, 1897.
414. Jaudel V.: poz. 176.
415. Jeffrey E. C.: The gametophyte of *Botrychium virginianum, Trans. Canad. Inst.,* **5** : 265—294, 1896—97.
416. Jelenkin A. A.: Mikoriza i analogicznyje projawlenja simbioza mieżdu gribam i korniami wysszych rastienij, *Żurn. bolezni rastienij,* **1** : 3, 1907.
417. Jelenkin A. A.: Jawlenje simbioza s toczki zrienja podwiżnogo rawnowiesja sożitielstwujuszczich organizmow, *Żurn. bolezni rastienij,* **1** : 106—176, 1907.
418. Jennings A. V., Hanna H.: *Corallorhiza innata* R. Br. and its mycorrhiza, *Sci. Proc. Roy. Soc.,* Dublin, **9** : 1—11, 1898.
419. Jodidi S., Land, Peklo J.: Symbiotic fungi of cereal seeds and their relation to cereal proteins. *Journ. Agr. Res.,* **38** : 71—91, 1929.
420. Johansen D. A.: Endotrophic mycorrhiza in cacti. *Journ. Cactus Succ. Soc. Amer.,* **2** : 478—480, 1931.
421. Johow F.: Die chlorophyllfreien Humusbrewohner West-Indiens, biologischmorphologisch dargestellt., *Jahrb. wiss. Bot.,* **16** : 415—449, 1885.
422. Johow F.: Die chlorophyllfreien Humuspflanzen nach ihren biologischen und anatomischentwicklungsgeschichtlichen Verhältnissen, *Jahrb. Wiss. Bot.,* **20** : 475—525, 1889.
423. Jones F. R.: A mycorrhizal fungus in the roots of legumes and some other plants, *Journ. Agr. Res.* **29** : 459—470, 1924.
424. Jones L. W.: poz. 334.
425. Joseph: Cultures expérimentales de pommes de terre dans les Pyrenées, *Ann. Sci. Nat. X, Bot.,* **17** : 51—58, 1935.
426. Jumelle H: De l'influence des endophytes sur la tubérisation des *Solanum, Rev. gén. Bot.,* **17** : 49—59, 1905.
427. Jurre N. A.: Pismo w redakciju żurnała. *Lesnoje choz.,* **12** : 17, 1939.
428. Kamerling Z.: Over het voorkomen van wortelkolletjes bij *Casuarina equisetifolia, Natuurkundig Tijdsch. Ned. Indie,* **71** : 73—75, 1911.
429. Kamieński F.: Die vegetationsorgane der *Monotropa hypopitis* L., *Bot. Zeitschr.,* **29** : 458—461, 1881.
430. Kamieński F.: Narzędzia odżywcze korzeniówki, Kraków 1881.
431. Kamieński F.: Organes végétatifs du *Monotropa hypopitys, Mem. Soc. Nat. Math.,* Cherbourg, **24** : 5—40, 1882.
432. Kamieński F. M.: Matieriały dla morfologii i biologii *Monotropa hypopitis* L. *Zapiski Noworossijskogo Obszcz. Jestiestwoisp.,* Odessa, **1**, 1883.
433. Kamieński F.: O simbioticzeskom sojedinienii micelja gribow s korniami wysszych rastienij, *Trudy S. Peterb. Obszcz. Jestiestw.,* **17** : 34, 1886.
434. Kamieński F. M.: O jawlenjach simbioza w rastitielnom carstwie, Odessa 1891.
435. Katakoa T.: On the significance of the root-nodules of *Coraria japonica* A., *Jap. Journ. Bot.,* **5** : 209—218, 1930.
436. Kauffman C. H.: *Cortinarius* as a mycorrhizaproducing fungus. *Bot Gaz.,* **42** : 208—214, 1906.
437. Kaufman C. M.: Root growth of jack-pine on several sites in the Cloquet Forest, Minnesota. *Ecology.* **26** : 10—23, 1945.

438. Kee Mc M.: Growth of spruce at Conical Hill, a mycorrhizal explanation. *New Zealand Journ. For.*, **4** : 311—313, 1941.
439. Kelley A. P.: The concept of mycorrhiza. *Mycologia*, **23**, 1931.
440. Kelley A. P.: The form and occurence of mycorrhizae in the genus *Populus*. *Landenberg Rev.*, 54—56, 1937.
441. Kelley A. P.: The chestnut blight and its relation to the principle of disease resistance, *Science*, **91** : 290—291, 1940.
442. Kelley A. P.: Some hiatuses in the plant Kingdom and their significance, *Jour. Trans. Victoria Inst.* **73** : 118—146, 1951.
443. Kelley A. P.: The variations in form of mycorrhizal shortroots of *Pinus virginiana* Mi 11. associated with certain soil series, Landenberg 1941.
444. Kelley A. P.: The process of phagocytosis in mycorrhizae, Landenberg, 1943.
445. Kelley A. P.: The present status of American chestnut in southeastern Pennsylvania, Landenberg, 1944.
446. Kelley A. P.: Mycotrophy in plants, Waltham Mass., *Chronica Botanica*, 1950.
447. Kessel S. L.: The dependence of certain pine species on a biological soil factor, *Emp. Forestry Journ.*, **6** : 70—74, 1927.
448. Kessel S. L., Stoate T. N.: Pine nutrition, *Forestry Bull.*, **50**, Perth 1938.
449. Kirchner O., von Loew E., Schröter C.: Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas, T. I, Stuttgart, Ulmer, 1908.
450. Klečka A., Vukolov V.: Srovnávací studie o mykorrhize dřewin, *Sbornik Československov. Akad. Zeměd.*, **10** : 443—457, 1935.
451. Klečka A., Vukolov V.: Srovnávací studie o mykorrhize lučnich halophyti., *Sbornik Československov. Akad. Zeměd.*, **12** : 190—195, 1937.
452. Kleczetow A. N.: Mikoriza w korniach tau-sagyza (Anatomiczeskoje issledowanje gribnogo endofita), *Agrobiologia*, **6** : 119, 1947.
453. Klein J., Szabó F.: Zur Kenntniss des Wurzeln von *Aesculus hippocastanum* L., *Flora*, **68** : 147—153, 163—168, 1880.
454. Knudson L.: *Amer. Journ. Bot.*, **7** : 371; 1920.
455. Knudson L.: Non-symbiotic germination of Orchid-seeds., *Bot. Gaz.*, **73** : 1—25, 1922.
456. Knudson L.: Further observations on non-symbiotic germination of Orchid seeds., *Bot. Gaz.*, **77** : 212—219, 1924.
457. Knudson L.: Physiological study of the symbiotic germination of Orchid seeds, *Bot. Gaz.*, **79** : 345—379, 1925.
458. Knudson L.: Is the fungus necessary for development of seedlings of *Calluna vulgaris? Amer. Journ. Bot.*, **15** : 624—625, 1928.
459. Knudson L.: Seed germination and growth of *Calluna vulgaris, New Phytol.*, **28** : 369—376, 1929.
460. Kny L.: Mittheilung über die Wurzelanschwellungen der Leguminosen, *Verhandl Bot. Ver. Brandenburg*, **21** : 115—118, 1879.
461. Koch L.: Ueber die directe Ausnutzung vegetabilischer Reste durch chlorophyllhaltigen Planzen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **5** : 350—364, 1887.
462. Koch L.: poz. 386, 387.
463. Koch A.: *Naturwissenschaften*, **38** : 339, 1951.
464. Komarow W. B.: Wozmożen li fagacitoz u rastienij?. *Priroda*. 1389. 1915.
465. Komarow W. L.: Proischożdienje rastienij. AN SSSR, Leningrad 1933.
466. Komornicki N. A.: poz. 479.
467. Kondo T.: Zur Kenntniss des N-Gehaltes des Mykorrhiza-knöllchens von *Podocarpis macrophylla* D., *Dan. Bot. Mag.*, **45** : 495—501, 1931.

468. Kopeć A.: poz. 939.
469. Kornaś J.: Z biologii naszych storczyków. *Wszechświat*, z. 10; 293—297, 1947.
470. Kostytschew S.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Berlin, 1925.
471. Kostytschew S.: Fizjologja rastienij, cz. I, Moskwa, 1933.
472. Kowalska H.: poz. 217.
473. Kramár N.: Studie über die Mycorrhiza von *Pirola rotundifolia* L., *Bull. Internat. Acad. Sci. Bohème*, 1899.
474. Krisztofowicz A. N.: Paleobotanika, 3 izd., 1941.
475. Kuklina-Chruszczowa E. P.: Znaczenie mikorizy w formirowanii urożaja pszenicy. *Sow. agron.*, **10** : 47—54, 1952.
476. Kunze G.: Ueber Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung, *Jahrb. wiss. Bot.*, **42** : 357—393, 1906.
477. Kursanow L. I.: Mikołogia, Moskwa 1933.
478. Kursanow L. I.: Mikologia, 1940.
479. Kursanow L. I.; Komornicki N. A.: Kurs niższych rastienij, Moskwa, 1945.
480. Kusano S.: *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*, *Journ. Coll. Agr., Tokyo*, **4** : 1—66, 1911.
481. Kürbis W. P.: Zur Pilzflora der Rhizosphäre der Esche, *Mitt. Forstwirtsch. Forstwiss.*, **8** : 289—292, 1937.
482. Küsters: poz. 650.
483. Lagerheim G.: Eine neue Entorrhiza, *Hedwigia*, **27** : 261—264, 1888.
484. Laing E. V.: Tree Roots, their action and development, *Trans. Roy. Scot. Arbor. Soc.*, **37** : 6—21, 1923.
485. Laitakari E.: Koivun juristo, *Acta For. Fenn.*, **41** : 216, 1934.
486. Lang W. H.: On the prothalli of *Ophioglossum pendulum* and *Helminthostachys zeylonica*, *Ann. Bot.*, **16** : 23—56, 1902.
487. Lange J. E.: Studies in the agarics of Denmark Part V, *Dansk Bot. Ark.*, **4** : 1—58, 1923.
488. Lanquist K. B.: Leaf litter in forest nurseries, *Journ. Forestry*, **43** : 43—44, 1945.
489. Larsen P.: Undersgelser over Storsvampe — Vegetationen paa et vestjydsk Hedeomraade, *Friesia*, **1** : 157—193, 1934.
490. Latham D. H., Doak K. D., Wright E.: Mycorrhizae and pseudomycorrhizal on pines, *Phytopath.*, **20** : 14, 1939.
491. Lawson A. A.: The prothallus of *Tmesipteris tannensis Trans. Roy. Sec. Edinburg*, **51** : 785—794, 1917.
492. Laycock D. H, Dale W. T.: Preliminary investigations into the function of the endotrophic mycorrhiza of *Theobroma cacao*. *Trop. Agric.*, 32 : 77—80, 1945.
493. Laycock D. H., Dale W. T.: ref. *Rev. Appl. Myc*, **24** : 358, 1945.
494. Lebarb P., Magrou J.: Rendement de la pomme de terre à diverses altitudes, *Bull. Mus. Hist. Mat., Paris*, **7** : 258—262, 1935.
495. Leitgeb H.: Untersuchungen über die Lebermoose, 1874—1879.
496. Landner A.: poz. 142.
497. Lennan E. J. Mc: The endophytic fungus of *Lolium* P. I. *Proc. Roy. Soc. Victoria N. S.*, **32** : 252—301, 1920.
498. Lennan E. Mc: The endophytic fungus of *Lolium* Part II. The mycorrhiza on the roots of *Lolium temulentum* L., with a discussion on the physiological relationship the organism concerned, *Ann. Bot.*, **40** : 43—68, 1926.
499. Lessman I. L.: A new form of ectotrophic mycorrhiza, *Trans. Illinois Acad. Sci.*, **20** : 80—81, 1928.

500. Lewis F. J.: An endotropic fungus in the Coniferae. *Nature*, **114** : 860, 1924.
501. Lewton-Brain L.: The mycorrhiza of *Elaphomyces variegatus*, *Ann. Bot.*, **15** : 526—530, 1901.
502. Levisohn I.: poz. 791, 792, 793.
503. Liebtag C.: poz. 237.
504. Lidl O.: Pilzwachstum, Baumwachstum und Nutzung der Pilze zu Ernährungszwecken, *Forstwiss. Centralbl.*, **61** : 361—370, 1930.
505. Life A. C.: The turbercle-like roots of *Cycas revoluta*, *Bot. Gaz.*, **31** : 265—271. 1901.
506. Lihnell D.:Untersuchungen über die Mykorrhizen und die Wurzelpilze von *Juniperus communis*, *Symb. Bot. Upsal*, **31** : 1—41, 1939.
507. Lihnell D.: *Cenococcum graniformae* als Mycorrhizabildner von Waldbäumen, *Symb. Bot. Upsal*, **5** : 2, 1942.
508. Lihnell D.: Keimungsversuche mit Pyrolasamen, *Symb. Bot. Upsal*. **6** : 3, 1942.
509. Lilienfeld F. A.: Przyczynek do znajomości *Haplomitrium hookeri*. *Bull. Intern Acad. Sci. Cracovie. Cl. Sci. Math. Nat.*, Sér. B, *Sci. Nat.*, 315—339, 1911.
510. Lindeberg G.: Ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstun verschiedener *Marasmius*-Arten, *Svensk. Bot. Tidskr.*, 1939.
511. Lindeberg G.: Ueber das Wuchsstoffbedürfnis verschiedener Arten der Pilzgattung *Marasmius*, *Svensk Bot. Tidskr.*, **33** : 85—90. 1939.
512. Lindeberg G.: Thiamin and growth of litter-decomposing Hymenomycetes, *Bot. Not.*, 1946.
513. Lindeberg G.: The effect of biotin and thiamin on the growth of *Collybia dryophila* Fr., *Bot. Not.*, 1946.
514. Lindeberg G.: poz. 615.
515. Lindquist B.: Om några parasitiska marksvampar i nordsvenska råhumusmarker, *Norrlands Skogsvardsförbunds Tidskr.*, 1937.
516. Lindquist B.: Die Fichtenmykorrhiza im Lichte der modernen Wuchsstofforschung, *Bot. Not.*, 315—356, 1939.
517. Linsbauer K., Ziegenspeck H.: Das Vorkommen von Spaltöffnungen die heterotrophen Blütenpflanzen im Lichte der Physiologische und Stammensgeschichte, *Biol. Gener.*, **17** : 511—565, n. d.
518. Lochhead A. G.: poz. 962.
519. Loehwing W. E.: Root intercation of plants., *Bot. Rev.*: **4** : 195, 1937.
520. Loew E. van.: poz. 449.
521. Lohman M. L.: Occurence of mycorrhiza in Iowa forest plants, *Univ. Iowa Stud., Nat. Hist.*, **11** : 5—30, 1927.
522. Long W. H.: Three undescribed heartroots of hardwood trees, especially of oak, *Journ. Agr. Res.*, **1** : 109—128, 1913.
523. Löhnis F.: Vorlesungen über landwirtschaftliche Bakteriologie, Berlin 1913.
524. Loomis W. E.: poz. 156.
525. Luckie Mc: Studies in symbiosis I. The mycorrhiza of *Dipodium punctatum*, *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **47** : 293—310, 1922.
526. Luckie Mc: Studies in Symbiosis II. The apogeotropic roots of *Macrozamia spiralis* and their physiological significance, *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **47** : 319—328, 1922.
527. Luckie Mc: Studies in Symbiosis III. Contributions to the morphology and physiology of the root nodules of *Podocarpus spinulosa* and *P. elata*, *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **48** : 82—93, 1923.

528. Luckie Mc: Studies in Symbiosis V. A contribution to the physiology of *Gastrodia sesamoides*, *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **48**: 436—448, 1924.
529. Luckie J. Mc, Burges A.: Mycotrophism in the *Rutaceae*. I. The mycorrhiza of *Eriostemon Crowei*. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **57**: 291, 1932.
530. Luckie Mc J., Burges A.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **12**: 311, 1933.
531. Luckwill I. C.: poz. 367.
532. Lumiére A.: Le mythe des symbiotes, Masson et Cie., Paris, 1919.
533. Lundstrom A. N.: Ueber Mykodomatien in den Wurzeln der Papilionaceen, *Bot. Centralbl.*, **38**: 159—160, 185—188, 1889.
534. Lutman B. F.: *Vt. Agr. Expt. Stat. Bul.*, 522, 1945.
535. Lück R.: Zur Biologie der heimischen *Pirola*-Arten, *Schrift Physik-ökonom. Gesellsch.*, **71**, Königsberg 1940.
536. Lyon T. L., Bizzell J. A., Wilson B. D.: Depressive influence of certain higher plant on the accumulation of nitrates in soil, *Journ. Amer. Soc Agr.*, **15**: 457—467, 1923.
537. Lyon T. L., Wilson J. K.: Liberation of organic matter by roots of growing plants, *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem.*, **40**, 1921.
538. Łobanow N. W.: Mietodika izuczenja rosta korniej driewiesnych kultur pri razlicznych właznostiach poczwy, *Dokł. Akad. Nauk SSSR*, **55**: 549. 1947.
539. Łobanow N. W.: Mikoriza lesnych rastienij, *Dokł Briansk. Lesochoz Ins.*, **1**: 9, 1947.
540. Łobanow N. W.: Mikoriza i stiepnoje lesorazwiedienje, *Socziemledielje*, 161, 1948.
541. Łobanow N. W.: Fomirowanje ektrotrofnych mikoriz na korniach dieriewjew w tieczieni wiegietacionnogo pierioda. *Dokł. Akad. Nauk. SSSR*, **64**: 579, 1949.
542. Łobanow W. N.: Mikotrofnyj tip pitanja lesnych dieriewjew, *Lesnoje choziajstwo* z. 43, 1949.
543. Łobanow W. N.: Mikotroinost' gławniejszych driewiesnych i kustarnikowych porod w usłowjach jewropiejskoj czasti SSSR, *Agrobiołogja*, 4: 49—62, 1951
544. Łysenko D. T.: Agrobiologja, 4-e wyd., Moskwa 1948.
545. Łysenko T. D.: Opytnyje posiewy lesnych połos gniezdowym sposobom, Sielchozgiz, 1949.
546. Mac Comb A. L.: poz. 363.
547. Mac Coy E.: poz. 290.
548. Mac Gowan J.: poz. 92.
549. Mac Kay H. H.: poz. 811.
550. Mager H.: Beiträge zur Kenntnis der primären Wurzelrinde, *Planta*, 16, 1932
551. Magnus P. W.: Die generische Stellung einer *Schinzia cupericola* vertheidigt gegen die Zweifel von Frank *Verhandl Bor. Ver. Brandenburg*, 21: 119, 1879
552. Magnus W.: Mycorrhiza, Bot. Wandtafeln mit erläutendem Text von L. Kny, 1911, 525; 116—117.
553. Magnus W.: Studien an der endotrophem Mycorrhiza von *Neottia nidus avis* L., *Jahrb. wiss. Bot.*, **35**: 205—272, 1900.
554. Magrou J.: Symbiose et tubérisation chez la pomme de terre. *Comp. rend. Acad Sci.*, **158**: 50—53, 1914.
555. Magrou J.: L'immunité dans la symbiose, *Ann. Inst. Pasteur*. 32, 1918.
556. Magrou J.: Symbiose et tubérisation, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, Serie III, **9**: 181—296 1921.
557. Magrou J.: La symbiose chez les plantes, *Bull. Inst. Pasteur*, **20**: 169, 1922.

558. Magrou J.: Remarques sur lec cultures expérimentales des pommes de terre avec endophyte, *Ann. Sci. Nat. Bot.,* **6** : 265, 1924.
559. Magrou J.: La symbiose chez les Hepatiques. Les *Pellia epiphylla* et son champignon commensal, *Ann. Sci. Nat. Bot.,* **7** : 725—780, 1925.
560. Magrou J.: La symbiose chez les plantes supérieurs, *Rev. gén. Bot.,* **40** : 45—52, 111—120, 1928.
561. Magrou J.: Culture et inoculation du champignon symbiotique de l'*Arum maculatum, Comp. rend. Acad. Sci.,* **203** : 887—888, 1936.
562. Magrou J.: Nouveaux essais de culture des champignons de mycorhizes, *Comp. rend. Acad. Sci.,* **208** : 923—925, 1939.
563. Magrou J.: *Ann. Sci. Nat. Bot.,* **11** : 97—102, 1943.
564. Magrou J.: Collection „L'Avenir de la Science", Nr 18, (b), Paris, 1943.
565. Magrou J.: Les facteurs de tubérisation, *Bull. Soc. Acclim. Fr.,* **91** : 145—167.
566. Magrou J.: Sur le rôle trophique des mycorhizes endotrophes, *Comp. Rend. Acad. Sci.,* **219** : 519—521, 1944.
567 Magrou J.: ref. *Rev. Appl. Myc.,* **24** : 332, 1945.
568. Magrou J.: Sur la culture de quelques champignons de mycorhizes à arbuscle et à vésicule, *Rev. gen. Bot.,* **53** : 49—77, 1946.
569. Magrou J.: ref. *Rev. Appl. Myc.* **26** : 164, 1947.
570. Magrou J.: ref. *Rev. Appl. Myc.* **26** : 261, 1947.
571. Magrou J.: Simbioz u orchidiej i u kartofiela, Izd-wo inostrannoj litieratury, Moskwa 1948.
572. Magrou J., Bouget J.: Présence de mycorrhizes chez une pomme de terre retournée à l'état sauvage, *Comp. rend., Acad. Sci.,* **207** : 1438, 1938.
573. Magrou J., Bouget J., Bouget C.: ref. *Ann. Inst. Pasteur.* **71** : 42, 1943.
574. Magrou J., Bouget J., Bouget C.: ref. *Rev. Appl. Myc.,* **24** : 242, 1945.
575. Magrou J., Bouget J., Segretein G.: Semis Symbiotiques de pomme de terre dans les Pyrenées, *Comp. rend. Acad. Sci,* **216** : 501—503, 1943.
576. Magrou J., Douchez I., Segretain G.: *Ann. Inst. Pasteur,* **69** : 246, 1943.
577. Magrou J., Magrou M.: Essai de culture du champignon symbiotique de la pomme de terre, *Comp. rend. Acad. Sci.,* 1940.
578. Magrou J.: poz. 173, 174, 175, 176, 304, 494
579. Magrou M.: poz. 577.
580. Malan C. E.: Ricerche sui tubercoli radicali e sulle micorize delle leguminose alpine, *Ann. Bot.,* **21** : 465—494, 1938.
581. Malinowski E.: Anatomia roślin, Warszawa 1938.
582. Malström C.: poz. 828.
583. Mancewicz D. I.: Analiz choda prożiwanja sosny w kulturach, 1948.
584. Mangin L.: Sur la structure des Mycorrhizes, *Comp. rend. Acad. Sci.,* **126** : 978 981, 1898.
585. Mangin L.: Observations anatomiques sur les mycorrhizes. Cinquantenaire de la Soc. Biol. Vol. jub.: 399—406, 1899.
586. Mangin L.: Etudes sur les mycorhizes, Paris, 1904.
587. Mangin L.: Introduction à l'étude des mycorhizes des arbres forestières. *Nouv. Arch. Mus. Hist. Nat.,* **5** : 243—278, Paris, 1910.
588 Marchal: Contribution à l'étude du champignon du caryopse des *Lolium. Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique Rev. Mycol.,* **26** : 57, 1902.
589. Marchionatto J. B.: Nota preliminar sobra el hongo endofita del *Lolium tementulum, Rev. Chil. Hist. Nat.,* **43** : 124—126, 1940.

590. Marcuse M.: Anatomisch-biologische Beiträge zur Mykorrhiza-Frage, H. Franke, Jena, 1902.
591. Mason E.: Note on the presence of mycorrhiza in the roots of salt marsh plant, *New Phytol.*, **27** : 193, 1928.
592. Masui K.: A study of the mycorrhiza of *Abies firma* S. et Z., with specjal reference to its mycorrhizal fungus, *Contharellus floccosus, Mem. Coll. Sci Kyoto Imp. Univ.* ser. B, **2** : 15—84, 1926.
593. Masui K.: On the renewed growth of the mycorrhizal root., *Mem. Coll. Sci., Kyooto Imp. Univ.*, ser. B, **2** : 85—92, 1926.
594. Masui K.: A study of the ectrotrophic mycorrhiza of *Alnus, Mem. Coll. Sci., Kyooto Imp. Univ.*, ser. B, **2** : 189—209, 1926.
595. Masui K.: A study of the ectotrophic mycorrhizas of woody plants, *Mem. Coll. Sci., Kyoto Im. Univ.*, ser. B. **3** : 149—297, 1927.
596. Mattirolo O.: Rapporti simbiotici sviluppasiti il tartufo „bianchetto" (*Tuber borchii Vittidini*) et i pioppi americana detti canadesi. *Ann. R. Accad. Agr. Torino*, **76** : 3—10, 1934.
597. Mazé P.: *Comp. rend. Acad. Sci.*, **152** : 452, 1911.
598. Melin E.: Studien over de norrlandska myrmarkerias vegetation medsarkils haysyn till deras skogs-vegetation efter torrlagning, *Acad. Abhandl. Uppsala*, 1917.
599. Melin E.: Till kännedomen om mykorrhizas vamparnas spriduingssätt hos Ericacerna, *Bot. Not.*, 283—286, 1921.
600. Melin E.: Ueber die Mykorrhiza-pilze von *Pinus silvestris* und *Picea abies.*, *Svensk, Bot. Tidskr.*, **15** : 192—203, 1921.
601. Melin E.: *Boletus*-Arten als Mycorrhisenpilze der Waldbäume, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **40** : 94, 1922.
602. Melin E.: *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **30** : 92—99, 1948.
603. Melin E.: On the mycorrhizas of *Pinus silvestris* L. and *Picea abies* Karst, *Journ. Ecol.*, **9** : 254—257, 1922.
604. Melin E.: Untersuchungen über die *Larix*-Mycorrhiza I. Synthese der Mykorrhiza in Reinkultur, *Svensk Bot. Tidskr.*, **16** : 161—196, 1922.
605. Melin E.:Experimentelle Untersuchungen über die Konstitution und Ökologie der Mykorrhizen von *Pinus silvestris* L. und *Picea abies* (L) Karst, *Mykol. Unters. Ber.*, **2** : 73—331. Cassel, 1923.
606. Melin E.: Experimentelle Untersuchungen über die Birken — und Espenmykorrhizen und ihre Pilzsymbioten, *Svenks Bot. Tidskr.*, **17** : 479—520, 1923.
607. Melin E.: Ueber den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Virulenz der Wurzelpilze von Kiefer und Fichte, *Bot. Not.*, **38**, 1924.
608. Melin E.:Zur Kenntnis der Mykorrhizapilze von *Pinus montana, Bot. Not.*, **69**, 1924.
609. Melin E.: Untersuchungen über die Bedeutung der Baum-Mycorrhiza. Eine ökologisch-physiologische Studie, G. Fischer, Jena, 1925.
610. Melin E.: Untersuchungen über die *Larix*-Mykorrhiza II. Zur weiteren Kenntnis der Pilzsymbionten, *Svensk Bot. Tidskr.*, 1998, 1925.
611. Melin E.: Ueber die Activität von proteolytischen und verwandten Enzymen einiger als Mycorrhizenpilze bekannten Hymenomyceten, *Biochem, Zeitschr.*, **157** : 146, 1927.
612. Melin E.:Studier över barrträdsplantans unveckling i råhumus II. Mykorrhizans utbilding hos tallplantan i olika råhumusformer, *Medd. Statens Skogsförs-anst.*, **23** : 433—494, 1927.
613. Melin E.: Methoden der experimentellen Untersuchung mykotropher Pflanzen.

Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. XI, 4, H. 6, 1015—1108, 1936.

614. Melin E.: Der Einfluss von Waldstreuextracten auf das Wachstum von Bodenpilzen mit besonderer Berücksichtigung der Wurzelpilze von Bäumen, *Symb. Bot. Upsal.*, **8**: 116, 1946.

615. Melin E., Lindeberg G.: Ueber den Einfluss von Aneurin und Biotin auf das Wachstum einiger Mykorrhizenpilze, *Bot. Not.*, 241—245, 1939.

616. Melin E, Miden G.: *Morchella conica* Pers. ein Aneurin autotropher Pilz, *Svensk. Bot. Tidskr.*, 1941.

617. Melin E., Norkrans B.: Ueber den Einfluss der Pyrimidin und der Thiazolkomponente des Aneurins auf das Wachstum von Würzelpilzen, *Svensk. Bot. Tidskr.*, **36**: 271—286, 1942.

618. Melin E., Nyman B.: Weitere Untersuchungen über die Wirkung von Aneurin und Biotin auf das Wachstum von Wurzelpilzen, *Arch. Microbiol.*, **11**: 318—328, 1940.

619. Melin E., Nyman B.: Ueber das Wuchsstoffbedürfnis von *Boletus granulatus* (L), Fr. *Arch. Microbiol.*, **12**, 1941.

620. Melin E., Wikén T.: Antibacterial substances in water extracts of pure forest litter, *Nature*, **158**: 200—201, 1946.

621. Melin E.: poz. 385.

622. Meyen J.: Ueber das Herauswachsen parasitischer Gewächse aus den Wurzeln anderer Pflanzen, *Flora*, **12**: 49—63, 1829.

623. Meyen J.: Neues System der Pflanzenphysiologie, 1838.

624. Meyer A.: Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der höheren Pflanzen und Tiere, Jena, 1920.

625. Meyer J. R.: Experiencias relativas a açao da tiamina (Vitamina B) sobre a germinaçao e desenvolvimento de sementes Orquideas em mios assimbióticos, *Biológico*, **9**: 401—406. 1943.

626. Miden B.: poz. 616.

627. Miège E.: Cultures expérimentales de la pomme de terre au Maroc en 1935 en montagne et en plaine. *Comp. rend. Acad. Sci.*, **202**: :2098—2101, 1936.

628. Miehe H.: Javanische Studien, IV, *Abhandl. Math.-Phys. Kl. Kg. Sächs. Ges. Wiss.*, **32**: 376—398, 1911.

629. Miche H.: Anatomische Untersuchung der Pilzsymbiose bei *Casuarina equisetifolia* nebst einigen Bemerkungen über das Mykorrhizenproblem, *Flora* **111/112**; 431—449, 1918.

630. Milanez F. R.: Observacoes sobre doenca das Laranjeiras, *Rodriguésia*, **4**: 199—263, 1940.

631. Milde D.: Zur kenntniss von *Anthoceros* und *Blasia*, *Bot. Zeit.*, **9**: 629—630, 1851.

632. Miller F. J.: The influence of mycorrhizae on the growth of shortleaf pine seedlings, *Journ. Forestry*, **36**: 526—527, 1938.

633. Mimura S.: The relation between forest trees and their mycorrhiza, *Exstr. Bull Imp. For. Exp. Sta. Japan*, **2**: 51—52, 1933.

634. Minden v.: Beiträge zur anal. und physiol. Kenntnis wassersecernirender Organe, Bibliotheca Botanica, 1899.

635. Miszustin E. N.: Mikroflora poczwy i obrazowanje mikorizy duba, *Agrobiologja*, **2**: 27—39, 1951.

636. Mitchell H. L.: The growth and nutrition of white pine (*Pinus strobus* L.)

seedlings in cultures with varying nitrogen, phosphorus, potassium and calcium *Black Rock Forest Bull.*, **9**, 1939.

637. Mitchell H. L., Finn R. F., Rosendahl R. O.: The relation between mycorrhizae and the growth and nutrient absorption of coniferous seedlings in nursery beds, *Black Rock Forest* Pap., **1** : 58—73, 1937.

638. Modess O.: Experimentelle Untersuchungen über Hymenomyceten und Gasteromyceten als Mykorrhizabildner bei Kiefer und Fichte, *Svensk Bot Tidskr.*, **33** : 91—93, 1939.

639. Modess O.: Zur Kenntnis der Mykorrhizabildner von Kiefer und Fichte. *Symb Bot. Upsal.*, **5** : 147, 1941.

640. Moeller A.: Beitrag zur Kenntnis der *Frankia subtilis* Brunchorst, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **8**, 1890.

641. Moeller A.: Bemerkungen zu Franks Mitteilung über den Dimorphismus der Wurzelknöllchen der Erbse, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **10**; 1892.

642. Moeller A.: Entgegnung gegen Frank, bettreffend den angeblichen Dimorphismus der Wurzeknöllchen der Erbse, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **10**, 1892.

643. Moeller A.: Mykorrhizen und Sticktoffernährung, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **24** : 230—233; 1906.

644. Mollberg A.: Untersuchungen über die Pilze in den Wurzeln der Orchideen. Diss. Jena, 1884 *Jenaische Zeitschr., Naturwiss.*, **27** : 519—536, 1884.

645. Molliard M.: Production expérimentale de tubercles aux dépens de la tige principale chez la pomme de terre, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **161** : 531—532, 1915.

646. Molliard M.: Tubérisation aseptique de la carotte du Dahlia, *Comp rend. Soc Biol.*, **83** : 138—140, 1920.

647. Molliard M.: Sur la biologie du *Calluna vulgaris* L., signification des mycorhizes chez les Ericacées, *Ann. Sci Nat Bot.*, Sér. 10, **19** : 401—408, 1937.

648. Mollison J. E.: *Goodyera repens* and its endophyte, *Trans. Bot. Soc. Edinburgh*, **33** : 391—403, 1943.

649. Montfort C.: Beziehungen zwischen morphologischen und physiologischen Reduktionserscheinungen im Bereich der Lichternährung bei saprophytischen Orchideen, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **58**, 1940.

650. Monfort, Küsters: Saprophytismus und Photosynthese. I. Biochemische und physiologische Studien an Humus-Orchideen, *Bot. Archiv.*, **40**, 1940.

651. Mounce F. C.: poz. 5.

652. Mowry H.: Symbiotic nitrogen fixation and the genus *Casuarina*, *Soil. Sci.* **36** : 409—421, 1933.

653. Möller A.: Ueber die Wurzelbildung der ein-und zweijährigen Kiefer im märkischen Sandboden, *Zeitschr. Forst Jagdw.*, **34** : 197—215, 1902.

654. Möller A.: Untersuchungen über ein- und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden, *Zeitschr. Forst. Jagdw.*, **35** : 257, 1903.

655. Möller A.: Mykorrhizen und Stickstoffernährung. *Ber Deut. Bot. Ges.*, **24** : 230—235, 1906.

656. Möller A.: Die Nutzbarmachung des Rohhumus (Trockontorf) bei Kiefernkulturen, *Zeitsch. Forst. Jagdw.*, 1908.

657. Möller H.: Beitrag zur Kenntniss der *Frankia subtilis* Brunchorst, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **8** : 215—224, 1830.

658. Muntz H. H.: Effects of composting and stand density upon long-leaf and slash pine nursery stock, *Journ. Forestry*, **42** : 114—118, 1945.

659. Müller P. E.: Bemerkungen über die Mycorrhiza der Buche, *Bot. Centralbl.* **26** : 22—26, 1886.

660. Müller P. E.: Sur deux formes de mycorhizes chez le Pin de Montage, *Bull Acad. Roy. Sci. Let. Danemark,* **6**: 249—256, 1902.
661. Nadson G. A.: K uczenju o simbiozie, *Żurn. bolezni rastienij,* 26—40, 1908.
622. Nakai T.: An observation on the gametophyte of *Cheiropleuria bicuspa var integrifolia, Bot. Mag.,* **47**: 1—5, Tokyo, 1933.
663. Narashimhan M. J.: A preliminary study of root nodules of *Casuarina, Indian Forester,* **44**: 265—268, 1918.
664. Naryana R. L.: A note on the gametophyte of *Botrichium virginianum var. languinosum* Sw., *Current Science,* **3**: 119—120, 1939.
665. Naughton E. J. M.: poz. 697, 698.
666. Nägeli K.: Botanische Beiträge. Pilz im Innern der Zellen, *Linnaea,* **16**: 278, 1842.
667. Neger F. W.: Ein Beitrag zur Mycorrhizafrage..., *Naturw. Zeit. Land-Forstw.* **1**: 372—376, 1903.
668. Neill J. C.: The endophyte of rye-grass (*Lolium perenne*), *New Zeland Journ. Sci. Techn.,* A, **21**: 280—291, 1940.
669. Neill J. C.: *Rhizophagus* in Citrus, *New Zeland Journ. Sci. Techn.* A, **35**: 191—201, 1944.
670. Neilson-Jones W.: On the fixation of atmospheric nitrogen by *Phoma radicis callunae..., Brit. Journ. Exp. Biol.,* **6**: 167—189, 1928.
671. Neilson-Jones W.: Some biological aspects of soil fertility, *Nature,* **145**: 411—412, 1940.
672. Neilson-Jones W.: Fused needle disease of pine, *Emp. Forestry Journ.,* **20**: 151—161, 1941.
673. Neilson-Jones W.: poz. 794, 795.
674. Němec B.: Die Mycorrhize einiger Lebermoose, *Ber. Deut. Bot., Ges.,* **17**: 311—317, 1899.
675. Němec B.: Ueber die Mycorrhize bei *Calypogeia trichomanes, Beitr. Bot. Centralbl.,* **16;** 1901.
676. Nespiak A.: Badanie mykotrofizmu roślinności alpejskiej ponad granicą kosodrzewiny w granitowych Tatrach (Mycotrophy of the alpine vegetation of the Tatra Mountains), *Acta Soc. Botan. Polon.,* **22**: 1, 1953.
677. Neumann G.: *Zblt. Bakt.,* II, **89**: 433, 1943.
678. Nicolai O.: Das Wachstum der Wurzel, *Schr. Phys.-oekon. Ges.,* Königsberg, **6**: 33—78, 1865.
679. Nicolas G.: Formations mycorhiziques dans une hépatique à thalle..., *Comp. rend. Acad. Sci.,* **178**: 228—230, 1924.
680. Nicolas G.: Remarques biologiques sur le *Lunularia cruciata* (L) Dumortier, *Feuille Nat.,* **45**: 76—81, 1924.
681. Nicolas G.: Observations sur un endophyte de *Lunularia cruciata* (L.) Dum., *Rev. Bryol.,* **2**: 35—40, 1929.
682. Nicolas G.: Association des Bryophytes avec d'autres organisme, Manual of Bryology, The Hague, 1932.
683. Niethammer A.: Studien über die Pilzflora böhmischer Böden, *Arch. Mikrobiol.,* **4**: 72—98, 1933.
684. Niewieczerzełówna B.: Studia mofologiczne nad mykorhizą storczyków krajowych. *Spraw. Tow. Nauk. Warszawskiego,* **25,** Wydz. IV, 1933.
685. Nikitinski J. J.: Ueber die Zersetzung der Huminsäure durch Mikroorganismen, *Jahrb. wiss. Bot.,* **34**: 365—420, 1902

686. Noack B.: Ueber Mykorrhizenbildende Pilze. Vorläufige Mitteilung. *Bot. Zeit.*, **47** : 389—397, 1889.
687. Nobbe F.: Ueber die physiologische Bedeutung der Wurzelknöllchen von *Eleagnus angustifolius, Landw. Versuchssta,* **41** : 138—140, 1892.
688. Nobbe, Hiltner: Die endotrophe Mycorrhize von *Podocarpus* und ihre physiologische Bedeutung, *Landw. Versuchssta,* **51** : 241—245, 1898.
689. Nobécouri P.: Sur la production d'anticorps par les tubercles des orchidées, *Comp. rend. Acad. Sci.,* **177** : 1055—1057, 1923.
690. Noelle W.: Studien zur vergleichenden Anatomie und Morphologie der Koniferenwurzeln mit Rücksicht auf die Systematik, *Bot. Zeit.,* **68** : 169—266, 1910.
691. Noggle G. R., Wynd F. L.: Effects of vitamins on germination and growth of orchids, *Bot. Gaz.,* **104** : 455—459, 1943.
692. Norkrans B.: Om mykorrhizabildande och rent saprofytiska Tricholomaarters fysiologi, *Svensk Bot. Tidskr.,* **38**: 1944.
693. Norkrans B.: poz. 617.
694. Nowogrudski D. M.: W. R. Wiliams i problema symbiotrofizma wysszych rastienij, *Usp. sowr. biot.,* **29**, 1950.
695. Nyman B.: poz. 618, 619.
696. O'Brien D. G.: Disease in strawberries, *Scot. Journ. Agr,* **11** : 286—297, 1928.
697. O'Brien D. G., Naugton E. J. M.: The endotrophic mycorrhiza of strawberries and its significance, *West. Scot. Agr. Coll. Res. Bull.,* **1** : 32, 1928.
698. O'Brien O. G., M'Naughton E. J.: ref. *Rev. Appl. Myc.,* **7** : 524, 1928.
699. Oliver F. W.: On *Sarcodes sanguinea, Torr. Ann. Bot.,* **4** : 303—326, 1890.
700. Oliveros S.: Effect of soil inoculation on the growth of Benguet Pine (*Pinus insularis* Endl.), *The Makiling Echo,* Manila **10** : 19—35, 1936/1939.
701. Osborn T. G. B.: The lateral roots of *Amyelon radicans* Will. and their mycorrhiza, *Ann. Bot.,* **23** : 603—611, 1903.
702. Owen E. C.: Nutrition and symbiosis, *Nature,* **160** : 78—81, 1947.
703. Pachlewski R.: Obserwacje nad rozwojem mykorhizy u degenerujących się drzew owocowych w szkółkach Kórnickich (Les observations sur le développment des mycorhizes chez quelques arbres fruitières des Jardins de Kórnik), *Acta Soc. Bot. Polon.,* **21** : 577—590, 1952.
704. Paduszyńska Z. poz. 940.
705. Palm B.: *Pinus* and *Boletus* in the tropics, *Svensk. Bot. Tidskr.,* **24** : 518—523, 1930.
706. Park M.: Mycological notes (11), *Trop. Agr.,* **70** : 171—174, Ceylon, 1928.
707. Parsons T. H.: Notes on orchid cultivation and on some orchids cultivated in Ceylon, *Bull. Dep. Agr. Ceylon,* **94** : 35, 1938.
708. Patrick S.: poz. 982.
709. Paulson R.: Fungi and birch trees, *Journ. Quekett Microsc. Club,* **11** : 42—45, 1923.
710. Peklo J.: Einiges über die Mycorrhiza bei den Muscineen, *Bull. Intern. Acad. Sci., Bohème,* **8** : 1903.
711. Peklo J.: Zur Lebensgeschichte von *Neottia nidus avis, Flora,* **96** : 260, 1906.
712. Peklo J.: Die epiphytischen Mycorrhizen nach neuren Untersuchungen, I. *Monotropa hipopytis* L., *Bull. Intern. Acad. Sci., Bohème,* 1908.
713. Peklo J.: Beiträge zur Mycorrhiza-Problem, *Ber. Deut. Bot. Ges.,* **27** : 239, 1909.
714. Peklo J.: Die pflanzlichen Aktinomykosen, *Zbltt., Bakt.* II, **27** : 451, 1910.
715. Peklo J.: Neue Beiträge zur Lösung der Mycorrhiza-problems, *Zeitschr. Gährungsphysiol.,* **2** : 246, 1913.

716. Peklo J.: poz. 419.
717. Pennington L. H.: Mycorrhiza-producing *Basidiomycetes*, *Michigan Acad. Sci. Rep.*, **10** : 47—50, 1908.
718. Penzig O.: Die Krankheit der Edelkastanien und B. Frank Mykorrhiza, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **3**; 1885.
719. Pessin L. J.: Mycorrhiza of southern pines, *Ecology*, **9** : 28—33, 1928.
720. Pessin L. J.: Root habits of long leaf pine and associated species, *Ecology*, **20** : 45—47, 1939.
721. Petri L.: Ricerche sul significato morfologico e fosiologico dei Prosporoidi (sporangioli di Janse) nelle micorize endotrophiche, *Nuovo Giorn. Botan., Ital.*, **10**: 541—562, 1903.
722. Petri L.: Sulle micorize endotrofiche della vite, *Rend. Accad. Lincei*, **16** : 789—791, 1907.
723. Petri L.: Rapporto fra micotrofia e attivita funzionale nell' olivo, *Rend. Accad. Lincei*, **17** : 754—763, 1908.
724. Petri L.: Etat actuel des connaissances sur la signification physiologique des mycorrhizes des arbres, *Bull. mens. rens. agr. malad. plant.*, Rome, **6** : 1230, 1915.
725. Petrow G.: Assimilation des Stickstoffs durch Samenpflanzen im Licht und im Dunkel, 1917.
726. Peyronel B.: Prime osservazioni sulla distribuzione degli Imenomiceti umicoli e sui loro probabili rapporti colle micorize ectotrofiche delle fanerogame, *Rend. Accad. Lincei*, **26** : 326—332, 1917.
727. Peyronel B.: Aleuni cosi di rapporti Micorizici tra Boletinee di essenza arbrea, *Mem. Reale Staz. Patol. Veget.*, Roma, **24**; 1920.
728. Peyronel B.: Nouveaux cas de rapports mycorrhiziques entre Phanérogames et Basidiomycètes, *Bull. Soc. Mycol. de France*, **37** : 143—148, 1921.
729. Peyronel B.: Sulla normale presenza di micorize nel grano e in altre piante coltivati e spontanee, *Boll. mens. Reale Staz. Patol. Veget.*, Roma, **3** : 43—50 1922.
730. Peyronel B.: Ricerche sui rapporti micorizici tra Basidiomicete e Fanerogame arborce, *Boll. mens. Reale Staz. Patol. Veget.*, Roma, **3** : 21, 1922.
731. Peyronel B.: Nuovi casi di rapporti micorizici tra Basidiomiceti et Fanerogami arborce, *Bull. Soc. Bot. Ital.*, Genova, **1** : 3, 1922.
732. Peyronel B.: Fructification de l'endophyte à arbuscules et à vesicules des mycorrhizes endotrophes, *Bull. Soc. Myc. France*, **39** : 119—126, 1923.
733. Peyronel B.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **2** : 172, 1923.
734. Peyronel B.: Specie di „Endogene" productrici di micorize endotrofiche, *Boll. mens. Reale Staz. Patol. Veget.* Roma, **5** : 73—75, 1924.
735. Peyronel B.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **3** : 538, 1924.
736. Peyronel P.: Prime ricerche sulla micorize endotrofiche e sulla microflora radicicola della Fanerogami, *Riv. Biol.*, **6** : 3, 1924.
737. Peyronel B.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **4** : 756, 1925.
738. Peyronel B.: Assenza di micorize nelle piante insettivore ed emiparassite e probabile significato della micoriza, *Atti IV Congr. Naz. Microbiol.*, Milano, 84—87, 1932.
739. Peyronel B.: *Boll. Sez. Ital., Soc. Intern. Microbiol.*, **4** : 483, 1932.
740. Peyronel B.: ref. *Zblit. Bakt.*, II, **88** : 448, 1933.
741. Peyronel B.: Le „Endogyne" quali produttivi ni micorize endotrofiche nelle fanerogame alpestri, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, **44** : 584—586, 1937.

742. Peyronel B.: Osservazioni e considerazioni sul fenomeno della micoriza al Piccolo S. Bernardo, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, **44** : 587—594, 1937.
743. Peyronel B.: *Atti R. Accad. Sci. Torino*, **75** : 391, 1940.
744. Peyronel B.: Ricerche sulla simbiosis micorizica nelle Epatiche, *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, **4** : 362—382, 1942.
745. Peyronel B.: ref. *Biol. Abstr.*, 6046, 1949.
746. Pfeffer W.: Ueber fleischfressende Pflanzen und über die Ernährung durch Aufnahme organischer Stoffe überhaupt, *Thiels Landw. Jahr.*, **6** : 996—998, 1877.
747. Pijl L. van der: Die Mykorrhiza von *Burmannia* und *Epirrhizathes* und die Fortpflanzung ihres Endophyten, *Rec. Trav. Bot. Neerland.*, **31** : 761—779, 1934.
748. Pirotta R., Albini A.: Osservazioni sulla Biologia der Tartufo giallo (*Terfesta teonis* Tul.), *Atti R. Accad. Lincei*, **9** : 4—8, 1900.
749. Pistor: Beiträge zur Kenntniss der biolog. Tätigkeit von Pilzen in Waldboden, *Zblit. Bakt.*, II, **80**, 1930.
750. Pittman H. A.: Note on the morphology and endotrophic mycorrhiza of *Rizanthella gardneri* Rogers, and certain other Western Australian orchids, *Journ Roy. Soc. West. Austr.*, **15** : 71—76, 1929.
751. Plotho O. von: Die Synthese der Knöllchen an den Wurzeln der Erle, *Arch. Mikrobiol.*, **12** : 1—18, 1941.
752. Pollacci G., Tredici V.: Sulla germinabilita asimbiotica dei semi di orchidee, *Atti Ist. Bot. Giov. Briosi Lab. Critt. Ital. R. Univ. Pavia*, **8** : 359—362, 1936.
753. Pope F. B.: poz. 886.
754. Porter J. N.: Investigations on orchid mycorrhiza, *Harvard Univ.* 72—74, 1924 1924.
755. Porter J. N.: The mycorrhiza of *Zeuxine strateumatica*, *Mycologia*, **34** : 380—390, 1942.
756. Portier P.: Rôle physiologique des symbiontes, *Comp. rend Acad. Sci.*, **165**, 1917.
757. Portier P.: Les symbiontes, Paris, 1918.
758. Posthumus O.: Some remarks on the vegetation on the sandy soil of the Padang Loewai..., *Proc. Akad. Wetensch., Amsterdam*, **40** : 505—512; 1937.
759. Potebnia A. A.: Gribnyje symbionty, Charkow, 1912.
760. Poulsen: Bidrag til triuridaceernes Naturhistorie, *Viden. Medd Naturhist. Foren., Kjöbenhavn*, **8** : 161—179, 1886.
761. Prat H.: Étude des mycorhizes du *Taxus baccata*, *Ann. Sci. Nat Bot.* **10** : 141—163, 1926.
762. Prat H.: Les mycorhizes de l'if du Canada ..., *Nat. Canad.*, **6** : 47—56, 1934.
763. Prat H.: Les gradients histophysiologiques et l'organogenèse végétale, *Contr Inst. Bot. Univ. Montréal*, **58** : 151, 1945.
764. Preston R. J. Jr: Anatomical studies of the roots juvenile lodgepole pine, *Bot. Gaz.*, **104** : 443—448, 1943
765. Prilleux E.: De la structure anatomique et du mode de végétation de *Neottia nidùs avis*, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, ser. IV, **5** : 267—282. 1856.
766. Pyke E. E.: Mycorrhiza in cacao, *Ann. Rep. Cacao Res.*, **4** : 41—48, Trinidad 1935.
767. Raillo A. I.: Matieriały po izuczenju poczwiennych gribow. *Biull. Otd. Ziemledielja Inst. Opyt. Agr.*, **6**, 1928.
768. Ramsbottom J.: Orchid mycorrhiza, *Trans Brit. Mycol Soc.* **8** : 28, 1922.
769. Rawlins T. E., Smith E. H.: A mycorrhizal fungus found in the smaller roots of celery, *Phytopath.*, **15** : 727, 1925.

770. Rayner M. C.: The ecology of *Calluna vulgaris, New Phytologist,* **12** : 59, 1913.
771. Rayner M. C.: Obligate symbiosis in *Calluna vulgaris, Ann. Bot.* **29** : 97—133, 1915.
772. Rayner M. C.: Recent developments in the study of endotrophic mycorrhiza, *New Phytologist,* **15** : 161, 1916.
773. Rayner M. C.: The ecology of *Calluna vulgaris,* The calcifuge habit, *Journ. Ecology,* **9** : 60—74, 1921.
774. Rayner M. C.: Nitrogen fixation in the *Ericaceae, Bot. Gaz.,* **73** : 226—235, 1922.
775. Rayner M. C.: Mycorrhiza in the *Ericaceae. Trans. Brit. Mycol. Soc.,* **8** : 61, 1922.
776. Rayner M. C.:The nutrition of mycorrhiza plants: *Calluna vulgaris, Brit. Journ. Exp. Biol.,* **2** : 265, 1925.
777. Rayner M. C.: Mycorrhiza. An account of non pathogenic infection by fungi in vascular plants and Bryophytes, *New Phytologist,* **15** : 246, 1927.
778. Rayner M. C.: *Phoma radici oalunae,* a physiological study, *New Phytologist,* **28**; 1929.
779. Rayner M. C.: Seedling development in *Calluna vulgaris, New Phytol.,* **28** : 377—385, 1929.
780. Rayner M. C.: Mycorrhiza in the genus *Citrus, Nature,* **131** : 399—400, 1933.
781. Rayner M. C.: The mycorrhiza of Conifers; *Journ. Ecology,* **22** : 308—312, 1934
782. Rayner M. C.: Mycorrhiza in relation to forestry. I. *Forestry,* **8** : 96—125, 1934.
783. Rayner M. C.: Mycorrhizal associations in Scots Pine, *Forestry,* **9** : 154—155, 1935.
784. Rayner M. C.:Mycorrhizal habit in the genus *Citrus, Nature,* **136** : 516—517, 1935.
785. Rayner M C.: The mycorrhizal habit in relation to forestry. II. Organic composts and the growth of young threes, *Forestry,* **10** : 1—22, 1936.
786. Rayner M. C.: The mycorrhizal habit in pinus: a comment, *Forestry,* **11** : 117—121, 1937.
787. Rayner M. C.: Recent work on mycotrophy in Conifers, *Forestry,* **11** : 128—132, 1937.
788. Rayner M. C.: The use of soil or humus inocula in nurseries and plantations, *Emp. Forestry Journ.,* **17** : 236—243, 1938.
789. Rayner M. C.: The mycorrhizal habit in relation to forestry. III. Organic composts and the growth of young threes. *Forestry,* **13** : 19—35, 1939.
790. Rayner M. C.: Trees and Toadstools, Faber and Faber, London 1945.
791. Rayner M. C., Levisohn I.: Production of synthetic mycorrhiza in the cultivated cranberry, *Nature,* **145** : 461, 1940.
792. Rayner M. C.; Lewisohn I.: The mycorrhizal habit in relation to forestry. IV. Studies on mycorrhizal response in pinus and other Conifers, *Forestry,* **15**: 1—36, 1941.
793. Rayner M. C., Levisohn I.: ref. *Rev. Appl. Myc.,* **21** : 298, 1942.
794. Rayner M. C., Neilson-Jones W.: Preliminary observation on the ecology of *Calluna vulgaris* on the Wiltshire and Berkshire dawns, *New Phytologist,* **10** : 227—240, 1911.
795. Rayner, Neilson-Jones: Problems in tree nutrition, an account of recherches concerned primarily with the mycorrhizal habit in relation to forestry and with some biological aspects of soil fertility, London 1946.

796. Reed H. L., Frémont T.: Sur les réaction des cellules des racines de citrus à l'infection par les mycorhizes, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **199** : 84—87, 1934.
797. Reed H. S., Frémont Th.: *Comp. rend. Soc. Biol.*, **116** : 201, 1934.
798. Reed W. S., Frémont Th.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **13** : 589, 1934.
799. Reed H., Frémont T.: Factors that influence the formation and development of mycorrhizal associations in Citrus roots, *Phytopathology*, **25** : 645—647, 1935.
800. Reess M.: Ueber *Elaphomyces* und sonstige Wurzelpilze, *Ber. Deut. Bot. Ges.* 1885.
801. Reess M.: Ueber den Parasitismus von *Elaphomyces granulatus*, *Sitz. Phys med. Soc. Erlan. gen.*, **12** : 103—107, 1888.
802. Reess M., Fisch C.: Untersuchungen über Bau und Lebensgeschichte der Hirschtrüffel, *Elaphomyces*, *Bibliot. Bot.*, **7** : 24, 1887.
803. Reinbold, Barbara: *Arch. Mikrobiol.*, **16** : 177—200, 1951.
804. Reinke J.: Einige Bemerkungen über das Spitzenwachstum der Gymnospermen Wurzel, *Göttingen Gesell. Wiss. Nachr.*, 530—533, 1871.
805. Reinke J.: Zur Kenntnis des Rhizoms von *Corallorhiza* und *Epipogon*, *Flora*, **31** : 145, 1873.
806. Reissek S.: Ueber Endophyten der Pflanzenzelle, *Natür. Abh. Ges. Haidinger*, **1** : 48, Wien 1847.
807. Rennefelt E.: Die Entwicklung von *Fomes annosus* bei Zusatz von Aneurin und verschiedenen Extracten, *Svensk Bot. Tidskr.*, **38**, 1944.
808. Renner S.: Beitrag zur Kenntnis einiger Wurzelpilze, *Phytopathol. Zeitsch.*, **8** : 457—487, 1935.
809. Resa F.: Untersuchungen über die Periode der Wurzelbildung insbesondere bei den Holzgewächsen, *Forst. Blätter.*, **15** : 321—331, 1878.
810. Rexhausen L.: Ueber die Bedeutung der ektotrophen Mycorrhiza für die höheren Pflanzen, *Beitr. Biol. Pflanz.*, **14** : 19—58, Halle a/Salle 1920.
811. Richards B. L., Mc Kay H. H.: Strawberry root rot in Utah, *Proc. Utah. Acad. Sci.*, **13** : 17—19, 1936.
812. Ridler W. F. F.: The fungus present in *Pellia epiphylla* (L.) Corda, *Ann. Bot.*, **36** : 193—207, 1922.
813. Ridler W. F. F.: The fungus present in *Lunularia cruciata* (L.), *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **9** : 82—92, 1923.
814. Rippel K.: *Zbltt. Bakt.* I, **155** : 636, 1950.
815. Rives L.: Le court-noué les mycorhizes endotrophes de la vigne, *Rev. Vitic.*, **59** : 385—392, 405—409, 1923.
816. Rivett M. F.: The root tubercles of *Arbutus unedo*, *Ann. Bot.*, **38** : 661, 1924.
817. Roberg M.: Weitere Untersuchungen über die Stickstoffernährung der Erle, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, 1934.
818. Roberg M.: Ueber den Erreger der Wurzelknöllchen europäischer Erlen, *Jahrb. wiss. Bot.*, **86** : 344—349, 1938.
819. Roeloffs Ir. J. W.: Over kustmatige Verjonging van *Pinus mercusii* Jungh. et de Vr. en *Pinus khasya Royl.*, *Boschbouwk. Tijdsch. Tectona*, **23** : 875—907, 1930.
820. Rolfs F. M.: *Rhizoctonia* and the potato, *Science*, **14** : 899, 1901.
821. Romell L. G.: Parallelvorkommen von Boleten und Nadelbäumen, *Svensk Bot. Tidskr.*, **15** : 204—213, 1921.
822. Romell L. G.: Blodriskan, en Granens Foljesvamp (*Lactarius deliciosus*, a fungus following spruce), *Svensk Bot. Tidskr.*, **24** : 524—530, 1930.

823. Romell L. G.: Ecological problems of the humus layer in the forest, *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir.*, 170, 1935.
824. Romell L. G.: A trenching experiment in spruce forest and its bearing on problems of mycotrophy, *Svensk Bot. Tidskr.* **32** : 89—99, 1938.
825. Romell L.-G.: The ecological problem of mycotrophy, *Ecology*, **20** : 163—167, 1939.
826. Romell L.-G.: Barrskogens marksvampar och deras voll i skogens liv. (Soil fungi of softwood forests and their role in the forest's life) *Svenska Skogsvards föreningens bidskrift*, **3** : 37, 348—375, 1939.
827. Romell L.-G.: Recension of Björkman E. 1942. Über die Bedingungen der Mykorrhizabildung bei Kiefer und Fichte, *Symb. Bot. Upsal.* VI. i *Svensk. Skogsvardsför, Tidskr.*, **40**, 1942.
828. Romell L.-G., Malmström C.: Henrik Hesselmans Tallhedsförsök Aren 1922-42. The Ecology of Lichen-Pine Forest Experiments (1922-42) by the late dr H. Hesselman, Stockholm 1945.
829. Rosendahl C. O.: Some fossil fungi from Minnesota, *Torr. Bull.*, **70** : 126—138, 1943.
830. Rosendahl R. O., Wilde S. A.: Occurence of ectotrophic mycorrhizal fungi in soils of cut-over areas and sand dunes, *Bull. Ecol. Soc. Amer.*, **23** : 73-74, 1924.
831. Rosendahl R. C.: poz. 637.
832. Routien J. B., Dawson R. T.: Some interrelationships of growth, salt absorption, respiration, and mycorrhizal development in *Pinus echinata* Mill., *Amer. Journ. Bot.*, **30** : 440—451, 1943.
833. Ruggieri G.: Sopra le micorize del mandorlo, *Boll. R. Staz. Patol. Veget.*, **17** : 165—168, 1937.
834. Russel: Microorganisms of the soil, 1923.
835. Rümker von R.: *Phytopathol. Zeitschr.*, **18** : 55, 1951.
836. Rümker von R.: poz. 996, 997.
837. Sabet Y.: Cotton mycorrhiza, *Nature*, **144** : 37, 1939.
838. Sabet Y. S.: Reactions of citrus mycorrhiza to manurial treatment, *Proc. Egypt. Acad. Sci.*, **1** : 21—28, 1946.
839. Sabet Y. S.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **26** : 297, 1947.
840. Sachs v. J.: Ein Beitrag zur Kenntniss der Ernährungsthätigkeit der Blätter. Gesammelte Abhandlungen, 360.
841. Sampson K.: The presence and absence of an endophytic fungus in *Lolium temulum* and *L. perenne*, *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **19** : 337—343, 1935.
842. Samucewicz M. M.: K woprosu o poczwiennoj gribnoj florie. Matieriały po Mikol. i Fitopat. VI, 1927.
843. Samuel G.: Note on the distribution of mycorrhiza, *Trans. Proc. Roy. Soc South Australia*, **1** : 245—246, 1926.
844. Samuel G.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **6** : 244, 1927.
845. Samuelson G.: Studien über die Entwicklungsgeschichte der Blüten einiger Bicornes-Typen, *Svensk Bot. Tidskr.*, 1913.
846. Sarauw G. F. L.: Über die Mykorrhizen unserer Waldbäume, *Bot. Centralbl* **53** : 343, 1893.
847. Sarauw G. F. L.: Rod Symbiose og Mykorrhiza soerlig hos Skovtraerne, *Botanisk Tidskrift*, **18** : 127, 1892-1893.
848. Sarauw G. F. L.: Sur les Mycorrhizes des arbres forestiers et sur le sens de la symbiose des racines, *Rev. Mycol.*, **25** : 157—172; **26** : 1—19, 1903/1904.

849. Saxton W. T.: Notes on conifers VII, *Pherosphaera hookeriana* Archer., *Ann. Bot,* **44** : 957—963, 1930.
850. Schacht W.: Beiträge zur Entwickelungsgeschichte der Wurzel, *Flora,* **17**; 1853.
851. Schacht H.: Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Gewächse, IV. *Ber. Verhand. Kön. Preus. Akad. Wiss., Berlin,* **1** : 377—384, 1854.
852. Schacht H.: Über Pilzfaden im Inneren der Zellen und der Stormehlkörper, *Monatsber. Berliner Akad. Wiss.,* 377, 1857.
853. Schaede R.: Die Actinomyceten — Symbiose vor *Myrica gale. Planta,* **29** : 32—46, 1938.
854. Schaede R.: Die pflanzlichen Symbiosen, Jena 1943.
855. Schaede R.: Die Symbiose in den Wurzelknöllchen der Podocarpeen, *Planta,* **35** : 703—720, 1943.
856. Schaffstein: *Jahr. wiss. Bot.,* **68** : 720—752, 1938.
857. Schaffstein G.: Untersuchungen über die Avitaminose der Orchideenkeimlinge, *Jahrb. wiss. Bot.,* **86**, 1938.
858. Schaffstein G.: Die Avitaminose der Orchideenkeimlinge, *Jahrb. wiss. Bot,* **90**, 1941.
859. Schaffstein G.: *Jahrb. wiss. Bot.,* **90** : 141—198, 1942.
860. Schimmler G.: Über Pilzwurzeln an Enziangewächsen, *Blumen — u. Pflanzen. Ver. Gartenw.,* **41** : 161—162, 1937.
861. Schimper A. F. W.: Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. *Bot. Zeit.,* **25**, 1888.
862. Schleiden M. J.: Grundzüge der wissenschaftl. Botanik, Leipzig 1849.
863. Schlicht A.: Über neue Fälle von Symbiose der Pflanzenwurzeln mit Pilzen, *Ber. Deut. Bot. Ges.,* **6** : 269—272, 1888.
864. Schlicht A.: Beiträge zur Kenntniss der Verbreitung und der Bedeutung der Mykorrhizen, *Landw. Jahrb.,* **18** : 478—506, 1889.
865. Schmidt E.: Mycorrhizae and their relation to forest soils. *Soil Sci.,* **64** : 459, 1947.
866. Schmucker Th.: Oekologie, *Fortschr. d. Bot.,* **7**, 1938.
867. Schopfer W. H.: Plants and vitamins, *Chronica botanica,* 1943.
868. Schröter C.: poz. 449.
869. Schuster C. E., Stephenson R. E., Ewenden W.: Mycorrhizas of filbert and walnut trees in Oregon, *Bot. Gaz.,* **105** : 388—392, 1944.
870. Schwarz F.: Die Wurzelhaare der Pflanzen. *Untersuch. Botan. Inst. Tübingen,* **1** : 135—188, 1883.
871. Schwarz E. J.: Parasitic root diseae of the *Juncaceae. Ann. Bot.,* **24** : 512, 1910.
872. Scully N. J.: Root distribution and environment in a maple-oak forest. *Bot Gaz.,* **103** : 492—517, 1942.
873. Segretain G.: poz. 575, 576.
874. Servattz C.: Développement et la nutrition des Mousses en milieux stérilisés. *Ann. Sci. Nat. Bot.,* **17** : 111—124, 1913.
875. Seward A. C.: On a news species of *Tempskya* from Montana *Tempskya Knowltoni, n. sp., Ann. Bot.,* **38** : 485—508, 1924.
876. Shibata K.: Beiträge zur Wachstumgeschichte der Bambusgewächse. *Journ. Coll Sci. Imp. Univ.,* Tokyo, 1900.
877. Shibata K.: Cytologische Studien über die endotrophen Mycorrhizen, *Jahrb. wiss. Bot.,* **37** : 643—684, 1902.
878. Shibata K., Takara M.: Studien über die Wurzelknöllchen, *Bot. Mag. Tokyo,* **31** : 157—182, 1917.

879. Shimizu R.: Some observations on the ectotrophic mycorrhizas of *Pinus densiflora* and *P. thunbergii*, *Bull. Sci. Fak. Terk., Kjusu Imp. Univ.*, **4** : 117—132, Fukuoka 1930.
880. Sievers E.: Untersuchungen über die Mycorrhizen von — *Allium* — und *Solanum* — Arten, *Arch. Mikrobiol.*, **18** : 289—321, 1953.
881. Simmonds J. H.: The work of the plant pathological branch, *Rep. Dept. Agric., Queensland* 1935—1936.
882. Skiric V.: Mikorhiza u nekih *Thymelaeacea*, *Izvj. Bot. Zavod. Kr. Svenc.*, Zagreb, **1** : 22—24, 1925.
883. Smith A. H.: Fruit — tree mycorrhiza around an Arbor, Michigan, *Papers Michigan Acad. Sci.*, **11** : 243—248, 1930.
884. Smith E. H.: poz. 769.
885. Smith J. W.: Plant pathological investigations, *Rep. Dept. Agric. Queensland*, 15—16, 1945.
886. Smith N. J. G., Pope F. B.: The association between the Gasteromycete *Polysaccum* and *Eucalyptus* roots, *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **19** : 95, 1934.
887. Smotlacha F.: Monografie českých hribovitých *(Boletinel)*, *Sitzungsben. klg. böhm. Gessel. Wiss., Math. — nat. Kl.*, **8** : 1—73, 1911.
888. Somerville W.: Excrescences on alder roots, *Quart. Journ. Forest.*, **5** : 117—179,1911.
889. Spessard E. A.: Prothallia of *Lycopodium* in America II, *Bot. Gaz.*, **74** : 392—413, 1922.
890. Sprat E. R.: The morphology of the root tubercles of *Alnus* and *Eleagnus* and the polymorphism of the organism causing their formation, *Ann. Bot.*, **26** : 119—128, 1912.
891. Spratt E. R.: The root nodules of the *Cycadaceae*, *Ann. Bot.*, **29** : 619—626, 1915.
892. Sprau F.: Beiträge zur Mykorrhizafrage. Die Fruktifikation eines aus *Orchis masculus* isolierten Wurzelpilzes, *Corticium masculi nov. spec.*, *Jahr. wiss. Bot.*, **85** : 151—168, 1937.
893. Sprau F.: Über die Anzucht heimischer Orchideen zwecks Salepgewinnung, *Orchis*, 41—44, 1939.
894. Stahl E.: Der Sinn der Mycorrhizenbildung, *Jahrb. wiss. Bot.*, **34** : 4, 539—668, 1900.
895. Stahl M.: Die Mykorrhiza der Lebermoose mit besonderer Berücksichtigung der thallosen Formen. Diss., Würzburg 1942.
896. Stahl M.: *Planta*, **37** : 103, 1949.
897. Stark N. W.:O mikrorizie w korniach paprotnika *Angiopteris* Hoffm., *Izw. Glawn. Bot. Sada RSFSR.*, **24** : 141—144, 1925.
898. Starkey R. L.: Influence of the proximity to roots on abundance and activity of microorganisms, *Soil. Sci.*, **32** : 367, 1931.
899. Starr A. M.: poz. 905.
900. Steinmann A.: The occurence of mycorrhiza in Cinchona in Java, *Trop. Agric.*, **72** : 281—283, Ceykon 1930.
901. Stephenson R. E.: poz. 869.
902. Stoarte T. N.: poz. 448.
903. Stojanow N.: Über die negative Fortpflanzung der Ophrydineen, *Flora*, **109** : 1—39, 1916.
904. Stokey A. G.: Gametophytes of *Marattia sambucina* and *Macroglossum smithii*, *Bot. Gaz.*, **103** : 559—569, 1924.

905. Stokey A. G.; Starr A. M.: *Lycopodium prothallia* in western Massachusetts, *Bot. Gaz.*, **77** : 80—88, 1924.
906. Stoklasa J., Doerell E. G.: Handb. der biophysikalischen und biochemischen Durchforschung des Bodens, Berlin 1926.
907. Strzemska J.: Wstępne sprawozdanie z pracy pt. Zagadnienie mikoryzy u zbóż cz. I: Owies (Obrazowanje mikorizy u chlebnych złakow cz. I: Owies. The problem of mycorrhiza in corn plants. P. I: Oats), Wydawn. powiel. Wydz. Gleboznawczego PINGW, Oddział Lub.-Kiel. w Puławach, Puławy 1949.
908. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż cz. I: Owies (The mycorrhiza of corn plants P. I: Oats), *Annales UMCS, S. E.*, **4** : 359—372, Lublin 1949.
909. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy, Wydawn. powiel. Wydz. Gleboznawczego PINGW, Oddział Lub.-Kiel. w Puławach, Puławy 1950.
910. Strzemska J.: Bibliografia zagadnienia mikoryzy, 420 poz., Wyd. powiel. Wyd. Gleboznawczego PINGW, Oddział Lub.-Kiel. w Puławach, Puławy 1950.
911. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Streszczenie referatów XI Zjazdu Mikrobiologów Polskich w Krakowie w r. 1951.
912. Strzemska J.: Obrazowanje mikorizy u chlebnych złakow, *Mikrobiołogja*, **20** : 120—121, Moskwa 1951.
913. Strzemska J.: ref. *Rev. Appl. Myc.* **30** : 562, 1951.
914. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż cz. II: Żyto, *Biuletyn CIR* nr 2/4/ : 106, Warszawa 1952.
915. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż cz. II: Żyto (Obrazowanje mikorizy u chlebnych złakow. cz. II: Roż. The mycorrhiza of corn plants P. II: Rye.) *Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 24—35, 1952.
916. Strzemska J.: Badania nad mikoryzą roślin zbożowych, *Postępy Wiedzy Rolniczej*, **4** : 38—41, Warszawa 1952.
917. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż cz. III: Pszenica, *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 297—306, Lublin 1953.
918. Szabo F.: poz. 453.
919. Takamatsu M.: Studien über die Mykorrhiza — Pflanzen im Solfataren — Gebiete aus dem Berg Hakkoda, *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.*, ser. IV (Biol.). 5 : 607—614, 1930.
920. Takara M.: poz. 878.
921. Tazoye H.: Modification and plasticity of the initial root system of some useful coniferous seedlings in Hokkaido by different soils, *Bull. Sch. Agr. For., Taihoku Imp. Univ.*, **1** : 94—112.
922. Ternetz Ch.: Assimilation des atmosphärischen Stickstoffes durch einen Torfbewohnenden Pilz., *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **22** : 267, 1904.
923. Ternetz Ch.: Assimilation des atmosphärischen Stickstoffs durch Pilze, *Jahrb. wiss. Bot.*, **44** : 353—408, 1907.
924. Thesleff A.: Studier öfver basidvampfloran i sydostra Finland med häusyn till dess sammansättung fysiognomi, fenologi, och ekologi, *Bird. yill Kännedom af Finlands Nat. o. Folk.*, 79, N. **1** : 140, 1920.
925. Thomas M. B.: The genus *Corallorhiza*, *Bot. Gaz.*, **18** : 166—170, 1893.
926. Thomas W. D.: A survey of northern Colorado flora bearing mycorrhizae, *Journ. Colorado-Wyoming. Acad. Sci.*, **3** : 36, 1941.
927. Thomas W. D.: The mycorrhizal fungi and mycorrhizae of four coniferous plantations in the Rhine Valley, *Phytopathol.*, **31** : 567—569, 1941.
928. Thomas W. D.: Mycorrhizae associated with some Colorado flora, *Phytopathol.*, **33** : 144—149, 1943.

929. Thornton H. G.: *Proc. Roy. Soc.* London, B., **106** : 110—122, 1930.
930. Thornton H. G.: poz. 91.
931. Tieghem P. van: Recherches sur la symétrie de structure des plantes vasculaires, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **5** : 1—314, 1870—71.
932. Tieghem P. van; Douliot H.: Recherches comparatives sur l'origine des membres endogènes dans les plantes vasculaires, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **7** : 1—661, 1888.
933. Transeau E. N.: The bogs and bog flora of the Huron River Valley, IV, *Bot. Gaz.*, **41** : 17—42, 1906.
934. Tredici V.: poz. 752.
935. Treub M.: Etudes sur les Lycopodiacées, *Ann. Jard. Bot. Buitenzorg.*, **4** : 107—138, 1884.
936. Treub M.: Onderzoekingen over serehziek suikerriet gedaan in's Land Plantentuin te Buitenzorg. Med. uit 's Lands Plantentuin, N. **2** : 55, Batavia, Landsdrukkerij 1885.
937. Truszkowska W.: Badania nad mykotrofizmem oraz zawartością glukozydów u trzech gat. *Digitalis* z naturalnych i sztucznych stanowisk (Issledowanja nad mikotrofizmom i naliczjem glukozidow i triech widow *Digitalis* iz jestiestwiennoj i iskustwiennoj sriedy. Recherches sur le mycotrophisme et le contenu de glucosides chez trois espèces de *Digitalis* dans les associations naturelles et dans les cultures). *Annales UMCS, S. C.*, **5** : 279—305, Lublin 1950.
938. Truszkowska W.: Badania nad mykotrofizmem nizinnego zespołu łąkowego na Psim Polu pod Wrocławiem (Recherches sur le mycotrophisme de l'association végétale de la prairie située dans le bas - fond à Psie Pole de Wrocław). *Acta Soc. Bot. Polon.*, **24** : 195—216, Warszawa 1952.
939. Truszkowska W., Kopeć A., Halicka E.: Dynamika rozwojowa mykorhizy u kukurydzy i końskiego zębu (La dynamique du développement des mycorrhizes observées chez quatres variétés de *Zea maïs*), *Acta Soc. Bot. Polon.*, **22**, 1953.
940. Truszkowska W., Paduszyńska Z.: Badania mykotrofizmu zbóż uprawianych w USRR, *Postępy Wiedzy Rolniczej*, **3** : 38—40, Warszawa 1952.
941. Truszkowska W.: poz. 218, 219.
942. Tubeuf C. von: Beiträge zur Kenntniss der Baumkrankheiten, Berlin 1888.
943. Tubeuf von: Pflanzenkrankenheiten, Berlin 1895.
944. Tubeuf C. von: Die Haarbildungen der Coniferen, *Forstl Naturwiss. Zeit.*, **5** : 173—193, 1896.
945. Tubeuf C. von: Beiträge zur Mycorrhizafrage, II, *Naturw. Ztschr. Land — u. Forstw.*, **1** : 67—82, 1903.
946. Tubeuf C. von: Über die Bildung von Wurzelknöllchen an Hochmoorpflanzen, *Naturw. Ztschr. Land — u. Forstw.*, **1** : 237—238, 1903.
947. Tubeuf C. von: Mykorrhizenbildung der Kiefer auf Hochmoor, *Naturw. Ztschr. Land — u. Forstw.*, **1** : 284—285, 1903.
948. Tulasne L. R.: Observations sur le genre *Elaphomyces*, et description de quelques espèces nouvelles, *Ann. Sci. Nat. Bot.*, **16** : 5—29, 1841.
949. Tunstall A. C.: Mycorrhiza on tea plants, *Indian Tea Assoc. Sci. Dept., Quart Journ.*, 159, 1925.
950. Tunstall A. C.: Notes on root diseases of tea in north east India, *Mem. Toklai Exp. Sta. Indian Tea Assoc.*, 8, 1940.
951. Ulbrich E.: Die Mykorhiza unserer Waldbäume nach dem gegenwärtigen Stande der Forschungen, *Der Naturforschr.*, **1** : 302—309, Berlin 1924/25.

952. Virtanen A.: *Ann. Acad. Sci. Fenn.*, A 36, **12** : 1—27, 1933.
953. Voss H., Ziegenspeck H.: Zur Biocönose des Mooswaldes, *Bot. Arch.*, **25** : 347—412, 1929.
954. Vouk V.: Das problem der pflanzlichen Symbiosen, Biologen — Kalender, Leipzig 1914.
955. Vuillemin M. P.: Les mycorhizes et les theories nouvelles de la vie complexe en biologie, *Rev. gen. Sci. pur. appl.*, **1** : 326—335, Paris 1890.
956. Vuillemin P.: Antibiose et Symbiose, *Assoc. Franc. Avanc. Sci.*, 1889.
957. Vukolov V.: poz. 450, 451.
958. Wahrlich W.: Beitrag zur Kenntniss der Orchideenwurzelpilze, *Bot. Zeit.*, **44** : 480—487; 497—505, 1886.
959. Waksman S. A.: Principles of soil microbiology, Bailière, Tindall, Cox, London 1931.
960. Waksman S. A.: Humus, London 1936.
961. Walker E. E.: Observations on the mycorrhiza of *Pinus radiata*, *Te Kura Ngahere*, **3** : 43—44, 1931.
962. Wallace R. H., Lochhead A G.: *Soil, Sci*, **67** : 63, 1949.
963. Weber C.: Über den Pilz der Wurzelanschwellungen von *Juncus bufonius* *Bot. Zeit.*, **42** : 369—379, 1884.
964. Weevers T.: Das Vorkommen des Ammoniaks und der Ammonsalze in den Pflanzen, *Rec. Trav. Bot. Néerland.*, **13** : 63—104, 1916.
965. Weiss F. E.: A mycorrhiza from the lower coal measures, *Ann. Bot.*, 18 : 255—265, 1904.
966. Werner: Symbiose obligatoire ou vie indépendante des champignons des Lichenes, *Comp. rend. Acad. Sci.*, **184**, 1927.
967. West C.: Mycorrhiza of *Marattiaceae*, *Ann. Bot.*, **30** : 357, 1916.
968. West C.: On *Stigeosporium marattiacearum* and the mycorrhiza of the *Marattiaceae*, *Ann. Bot.*, **31** : 77—99, 1917.
969. West P. M.: *Nature*, **144** : 1050, 1939.
970. Wettstein R.: Handbuch der systematischen Botanik, 1933.
971. Weyland H.: Zur Ernährungsphysiologie mykotropher Pflanzen, *Pringsheim's Jahrb. wiss. Bot.*, **51** : 1—80, 1912.
972. White D. P.: Prorie soil as a medium for tree growth, *Ecology*, 22 : 398—407, 1941.
973. White P. R.: Mycorrhiza as a possible determining factor in the distribution of the strawberry, *Ann. Bot.*, **43** : 535—544, 1929.
974. Wibiral E.: Nochmals die Mycorrhiza, deren praktische Bedeutung, *Mitt, Gartenbauges, Steiermark*, **36** : 85—89, 1910.
975. Wiken T.: poz. 620.
976. Wilde S. A.: Forest soils and forest growth, *Chronica botanica*, 1946.
977. Wilde S. A. — poz. 830.
978. Wiliams W. R.: Poczwowiedienje, 1946.
979. Wiliams W. R.: Poczwowiedienje w osnownom ziemledielii, Gos. izd-wo, 1946.
980. Wiliams W. R.: Sobranje soczinienij IV, 1949.
981. Wiliams W.: Gleboznawstwo. Podstawy rolnictwa, Tłum. z jęz. ros., Warszawa 1950.
982. Wilkins W. H.: Patrick S.: The ecology of the larger fungi, III, *Ann. Appl. Biol.* **26** : 25—46 1939; *Wisconsin Agr. Exp. Sta.*, 58 th. Ann. Rept., Part II, Bull. 455, 1941.
983. Willcke L.: poz. 998, 999.

984. Wilson B. D.: poz. 536.
985. Wilson J. K.: poz. 537.
986. Winter A. G.: *Phytopath. Z.*, **15** : 204, 1942.
987. Winter A. G.: *Arch. Microbiol.*, **14** : 240, 1949.
988. Winter A. G.: *Naturwiss.*, **36** : 30, 1949.
989. Winter A. G.: *Arch. Microbiol.*, **15** : 42, 1950.
990. Winter A. G.: *Zbltt. Bakt.*, I, **155** : 342, 1950.
991. Winter A.G.: *Naturwiss.*, **37** : 542, 1950.
992. Winter A. G.: *Phytopath. Z.*, **17** : 421, 1951.
993. Winter A. G.: *Naturwiss.*, **38** : 262, 1951.
994. Winter A. G.: *Naturwiss.*, **38** : 457, 1951.
995. Winter A. G.: Zum Problem der Mykorrhiza bei landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. I. Die Mykorrhizen der Gramineen., *Ztschr. Pflanzenernähr. Düngung Bodenkunde*, **3** : 221—243, Berlin 1953.
996. Winter A. G.: Rümker von. R.: *Naturwiss.*, **36** : 30, 1949.
997. Winter A. G.: Rümker *v. R.*: *Arch. Microbiol.*, **15** : 72, 1950.
998. Winter A. G.: Willeke L.: *Naturwiss.*, **38** : 262, 1951.
999. Winter A. G., Willeke L.: *Naturwiss.*, **38** : 457, 1951.
1000. Wolf H.: Zur Physiologie des Wurzelpilzes von *Neottia nidus avis* Rich. und einigen grünen Orchideen, *Jahrb. wiss. Bot.*, 1926.
1001. Wolf J.: Contribution à la connaissance des phénomènes de symbiose chez les Orchidées. *Comp. rend. Acad. Sci.*, **177** : 554—555, 1923.
1002. Wolf, Wolf: The Fungi, 1947.
1003. Woodroof N. C.: Pecan mycorrhizas, *Georgia Exp., Sta. Bull.*, 178, 1933.
1004. Woronin M.: Über die sogennante Pilzwurzel (Mycorrhiza) von A. Frank, *Ber. Deut. Bot. Ges.*, **3** : 205, 1885.
1005. Woronin M. S.: Über die bei Schwarzerde und der gewöhnlichen Garten Lupine auftretender Wurzelschwellungen, *Mém. Acad. Imp. Sci. St. Pétersb.*, **10** : 2, 1886.
1006. Wozniakowska Ju.: poz. 144.
1007. Wright E.: poz. 490.
1008. Wunschik H.: *Zbltt. Bakt.*: *II*, **64** : 395—445, 1925.
1009. Wynd F. L.: poz. 691.
1010. Wysocki G. N.: Mikoriza dubowych i sosnowych siejancew, *Lesopromyszl. wiestnik*, **29** : 504, 1902.
1011. Wysocki G. N.: Napominanje stiepnym lesowodam o mikorizie, *Lesnoje choz-wo.*, 10/11, 1929.
1012. Yeates J. S.: The root nodules of New Zealand pines, *New Zealand Journ. Sci. Techn.*, **7** : 121—124, 1924.
1013. Young H. E.: A mycorrhiza-forming fungus of *Pinus, Journ. Austral. Inst. Agr. Sci.*, **2**, 1936.
1014. Young H. E.: *Rhizopogon luteolus*, a mycorrhizal fungus of *Pinus, Forestry*, **11** : 30—31, 1937.
1015. Young H. E.: The acidification of alkaline nursery soils for the production of exotic pines, *Queensland Agr. Journ.*, 1938.
1016. Young H. E.: Fused needle disease and its relation to the nutrition of *Pinus, Queensland Forest Service*, Bull. N. 13, 1940.
1017. Young H.: Carbohydrate absorption by roots of *Pinus taeda, Biol. Abstr.*, **22** : 1043, 1948.
1018. Yousef H. M.: *Proc. Egypt. Acad. Sci.*, **2** : 290, 1946.
1019. Yousef H. M.: ref. *Rev. Appl. Myc.*, **27** : 290, 1948.

1020. Zablocka W.: Untersuchungen über die Mykorrhiza bei der Gattung *Viola*. *Bull Inter. Acad. Polon. Sci., Ser. B.*, **1** : 1936.
1021. Zach F.: Über den in den Wurzelknöllchen von *Eleagnus augustifolia* und *Alnus glutinosa* lebenden Fadenpilz. *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Naturw. kl.*, **117** : 973—984, 1908.
1022. Zach F.: Untersuchungen über die Kurzwurzeln von *Sempervivum* und die daselbst auftretende endotrophe Mycorrhiza. *Sitzungber., Akad. Wiss. Wien, Math.-Naturw. kl.*, **118** : 185—200, 1909.
1023. Zennings A. V., Hanna H.: *Corallorhiza innata* and its mycorrhiza. *Sci Proc. Roy. Soc., Dublin*, **9** : 1, 1898.
1024. Zeuner H.: Mykorrhiza, *Ztschr. Pilzkunde*, **1**, Berlin 1922.
1025. Ziegenspeck H.: Die cytologischen Vorgänge in den Knöllchen von *Hippophae rhamnoides* (Sanddorn) und *Alnus glutinosa* (Erle). *Ber. Deut. Ges.*, **47** : 50—58, 1929.
1026. Ziegenspeck H.: poz. 306, 307, 517, 953.
1027. Zimmermann P. W.: poz. 392.
1028. Asai T.: *Japan. J. Botany*, **12** : 395—436, 1943.
1029. Asai T.: *Japan. J. Botany*, **13** : 463—485, 1944.
1030. Bahme R. B.: *Science*, **109** : 522—523, 1949.
1031. Björkman E.: *Svenska Skogsvardsfören, Tidskr.*, **42** : 333—335, 1944.
1032. Björkman E.: *Svensk Botan. Tidskr.*, **43** : 223—262, 1949.
1033. Brian P. W.: *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **29** : 211—218, 1946.
1034. Brian P. W.: *Ann. Bot.*, **13** : 59—78, 1949.
1035. Brian P. W., Curtis P. J., Hemming H. G.: *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, **32** : 30—33, 1949.
1036. Cappelletti C.: *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, **42** : 265—266, 1935.
1037. Diener T.: *Phytopathol. Z.* 16 : 129—170, 1950.
1038. Downie D. G.: *Trans. Proc. Botan. Soc. Edinburgh*, **33** : 94—103, 1941
1039. Downie D. G.: *Trans. Proc. Botan. Soc. Edinburgh*, **33** : 380—382, 1943.
1040. Elisei F. G.: *Atti Ist. Botan. „Giovanini Briosi" e lab. crittogam. Univ. Pavia*, **13** : 131—158, 1941.
1041. Gast P. R.: *Medd. Statens Skogsförsöksanstalt*, **29** : 587—678, 1937.
1042. Gäumann E., Braun R., Bazzigher G.: *Phytopathol. Z.* 17 : 36—62, 1950
1043. Gäumann E., Jaag O.: *Experientia*, **1** : 21—22, 1945.
1044. Gilli A.: *Sydowia*, **5** : 129—134, 1951.
1045. Harley J. L.: *New Phytologist*, **49** : 213—247, 1950.
1046. Harley J. L., Mc Cready C. C.: *New Phytologist*, **49** : 388—397, 1950
1047. Harley J. L., Mc Cready C. C.: *New Phytologist*, **51** : 56—64, 1952.
1048. Henriksson L. E.: *Svensk Botan. Tidskr*, **45** : 447—459, 1951.
1049. Holländer S.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Wurzelpilzen saprophytisch lebender Orchideen. Werkbunddruckerei, Würzburg 1932.
1050. How J. E.: *Ann. Bot.*, **4** : 135—150, 1940.
1051. Keller H. G.: Untersuchungen über das Wachstum von *Cenococcuum graniforme* (Sow.) Ferd. et Winge auf verschiedenen Kohlenstoffquellen. Juris-Verlag, Zürich, 1952.
1052. Kramer P. J., Wilbur K. M.: *Science*, **110** : 8—9, 1949.
1053. Lindeberg G.: *Activ botan.*, **33(A)** : 1—16, 1946.
1054. Lindeberg G.: *Symb. Botan. Upsal*, **8** : 1—183, 1944.
1055. Lindeberg G.: *Physiol. Plantarum*, **1** : 196—205, 1948.
1056. Dougall Mc D T., Dafrenoy J.: *Yearbook Am. Phil. Soc.* 161—162, 1942

1057. Mariat F.: *Rev. gén. Botan.*, **59**: 324—377, 1952.
1058. Melin E.: *Svensk Botan. Tidskr.*, **37**, 1943.
1059. Melin E., Mikola P.: *Physiol. Plantarum*, **1**: 109—112, 1948.
1060. Melin E., Nilsson H.: *Physiol. Plantarum*, **3**: 88—92, 1950.
1061. Melin E., Nilsson H.: *Svensk Botan. Tidskr.*, **46**: 281—285, 1952.
1062. Melin E., Nilsson H.: *Nature*, **171**: 134, 1953.
1063. Melin E., Norkrans B.: *Physiol. Plantarum*, **1**: 176—184, 1948.
1064. Meyer J. R., Pelloux A.: *Biológico*, **14**: 151—161, 1948.
1065. Mikola P.: *Commun. Inst. Forest Fenniae*, **36**: 1—104, 1948.
1066. Möller C. M.: *Det forstlige Forsgsvaesen Danmark*, **19**: 105—208, 1947.
1067. Neilson-Jones W. J.: *Agr. Sci.*, **31**: 379—410, 1941.
1068. Norkrans B.: *Svensk Botan. Tidskr.*, **43**: 485—490, 1949.
1069. Norkrans B.: *Symb. Botan. Upsal*, **11**: 1—126, 1950.
1070. Rayner M. C.: *Forestry*, **21**: 204—216, 1947.
1071. Reitsma J.: *Phytopathol. Z.*, **4**: 461—522, 1932.
1072. Rosendahl R. O.: *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **7**: 477—479, 1942.
1073. Roulet M. A.: *Experientia*, **4**: 149—150, 1948.
1074. Roulet M. A., Schopfer W. H.: *Trans. Fourth Intern. Congr. Soil Sci.*, **1**: 202—203, 1950.
1075. Santos N. F.: *Publ. Dir. Geral. Serv. Florestais Aquicolas*, **8**: 65—95, 1941.
1076. Sappa F.: *Nuovo Giorn. Botan. Ital.*, **47**: 155—198, 1940.
1077. Sappa F.: *Nuovo Giorn. Botan. Ital.*, **54**: 356—358,1947.
1078. Schmidt E. L.: *Soil Sci.*, **71**: 129—140, 1951.
1079. Schmidt E. L., Starkey R. L.: *Soil Sci*, **71**: 221—231, 1951.
1080. Slankis V.: *Physiol. Plantarum*, **1**: 390—400, 1948.
1081. Slankis V.: *Svensk Botan. Tidskr.*, **43**: 603—607, 1949.
1082. Slankis V.: *Physiol. Plantarum*, **3**: 40—44, 1950.
1083. Slankis V.: *Symb. Botan. Upsal*, **11**: 1—63, 1951.
1084. Thornton H. G. et al.: *Proc. Roy Soc. London*, (B),**139**: 170—207, 1952.
1085. Treschow C.: *Dansk Botan. Arkiv*, **11**: 1—180, 1944.
1086. Wasilkow B. P.: *Sowiet. Botan.*, 21—27, 1944.
1087. Vermeulen P.: Studies on Dactylorchids, Schotanus & Jens, Utrecht 1947.
1088. Young H. E.: *Queensland J. Agr. Sci.*, **4**: 1—6, 1947.
1089. Miszustin E. N., Puszkinska O. I.:Mikoriza driewiesnych rastienij i jejo znaczienje pri polezaszczitnych lesonasażdienjach. *Mikrobiologia*, **18**: 447—467. Moskwa 1949.
1090. Melin E.: Physiology of mycorrhiza relation in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **4**: 325—346, 1953.
1091. Harley J. L.: Associations between Microorganisms and Higher Plants (Mico rrhiza), *Ann. Rev. Microbiol.*, **6**, 1952.
1092. Rayner M. C., Neilson-Jones W.: Rol mikoriz w pitanii dieriewiew (Problems in tree nutritions, 1949), Izd. inostrannoj litieratury, Moskwa 1949.
1093. Kelley A.: Mikotrofia u rastienij (Mycotrophy in Plants, 1950), Izd. inostrannoj litieratury, Moskwa 1952.

SPIS TREŚCI

Strona

Wł. Kunicki-Goldfinger, K. Dygdała, B. Tuszyńska i H. Doleżko: Dyfteroidy glebowe cz. III. Własności fizjologiczne i klasyfikacja 93

D. Wiercieńska: Oznaczanie penicyliny w płynach ustrojowych przy pomocy próby reduktazowej 113

B. Brzezińska-Dudziak: Oznaczanie ilości ameb w glebie wg zmodyfikowanej metody Singha 121

D. Shugar: Lizozym 125

J. Strzemska: Bibliografia prac z zakresu mikoryzy, lata 1758—1953 . 155

СОДЕРЖАНИЕ

Вл. Куницки-Гольдфингер, К. Дыгдала, Б. Тушинска и Г. Долежко: Почвенные дифтероиды. III. Физиологические свойства и систематика 93

Д. Верценска: Определяние пенициллина в биологических жидкостьях редуктазным методом 113

Б. Бжезинска-Дудзяк: Обозначание количества амёб в почвах по видоизмененному методу Синга 121

Д. Шугар: Лизоцим 125

Я. Стржемска: Библиография микоризы с 1758 по 1953 год . . 155

CONTENTS

Page

Wł. Kunicki-Goldfinger, K. Dygdała, B. Tuszyńska u. H. Doleżko: Bodendiphtheroide. Teil III. Physiologische Eigenschaften und Systematik 93

D. Wiercieńska: The assay of penicillin in body fluids by reductase method 113

B. Brzezińska-Dudziak: Soil-amoebae counting by the modified dilution technique of Singh 121

D. Shugar: Lyzozyme 125

J. Strzemska: Index of Literature on Mycorrhiza 1758—1953 . . . 155

KOMITET DLA SZERZENIA NAUKI PAWŁOWA

przy Polskiej Akademii Nauk

ogłasza

KONKURS

na

NAJLEPSZĄ PRACĘ POPULARYZATORSKĄ W DZIEDZINIE NAUKI PAWŁOWA

W zasadzie tematyka nie jest ograniczona. Pożądanym byłoby naświetlenie następujących zagadnień:

— Rozwój ewolucyjny czynności nerwowej
— Kształtowanie się mowy ludzkiej
— Miejsce nauki Pawłowa w naukach przyrodniczych i społecznych
— Znaczenie nauki Pawłowa w teorii i w praktyce nauk medycznych, pedagogicznych, psychologicznych i innych
— Światopoglądowe znaczenie nauki Pawłowa.

Dzieło powinno być opracowane na poziomie dostępnym szerokiemu ogółowi. Pożądane liczne ilustracje.

Za prace, uznane przez Sąd Konkursowy za najlepsze, Komitet przeznacza następujące nagrody:

I-sza nagroda w wysokości	zł 10.000.—
Trzy II-gie nagrody po	zł 5.000.—
Pięć III-ch nagród po	zł 2.000.—

Niezależnie od nagrody autor otrzymuje honorarium autorskie. Komisja organizacyjna konkursu zastrzega sobie prawo zakupu nienagrodzonych prac według obowiązujących stawek autorskich.

Sąd Konkursowy będzie stanowiła Komisja wyłoniona przez Komitet dla Szerzenia Nauki Pawłowa.

Termin składania prac do dnia 15 września 1954 r.

Prace zaopatrzone godłem z oddzielnie zaklejoną kopertą zawierającą nazwisko i adres autora należy przesyłać do Komitetu dla Szerzenia Nauki Pawłowa, Polskiej Akademii Nauk — Warszawa— ul. Nowy Świat nr 72 pokój nr 139 z adnotacją „KONKURS".

Cena zł 10.—

CZASOPISMA NAUKOWE

POLSKIEJ AKADEMII NAUK I TOWARZYSTW NAUKOWYCH

WYDAWANE PRZEZ PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

TYTUŁ	Ilość nr w roku	Prenumerata półroczna zł
Acta Biochimica Polonica	4	30
Acta Geologica Polonica	4	40
Acta Geophysica Polonica	4	24
Acta Microbiologica Polonica	4	20
Archiwum Budowy Maszyn	4	30
„ Hydrotechniki	4	30
„ Górnictwa i Hutnictwa	4	30
„ Elektrotechniki	4	30
„ Mechaniki Stosowanej	4	30
Biuletyn Pan w językach zachodnio-europejskich		
Wydz. II	4	10
„ III	10	25
„ IV	4	10
Biuletyn PAN w języku rosyjskim		
Wydz. II	4	10
„ III	10	25
„ IV	4	10
Chrońmy Przyrodę Ojczystą	6	12
Czasopismo Geograficzne	4	14
Ekonomista	4	30
Folia Biologica	4	24
Geodezja i Kartografia	4	20

TYTUŁ	Ilość nr w roku	Prenumerata półroczna zł
Kosmos	6	21
Kwartalnik Historyczny	4	30
Kwartalnik Historii Kultury Materialnej	4	30
Kwartalnik Instytutu Polsko-Radzieckiego + Sovietica	4	20
Kwartalnik Neofilologiczny	4	30
Meander	10	25
Myśl Filozoficzna	4	30
Nauka Polska		
(wersja polska)	4	40
(wersja zach. europ.)	4	10
(wersja rosyjska)	4	10
Postępy Astronomii	4	10
Postępy Fizyki	4	20
Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej	4	24
Przegląd Geograficzny	4	20
Przegląd Historyczny	4	24
Przegląd Statystyczny	4	24
Przegląd Orientalistyczny	4	24
Roczniki Chemii	4	40
Sprawozdania z Czynności i Prac PAN	4	10
Wiadomości Archeologiczne	4	24
Wszechświat	10	20

Organ Min. Szkol. Wyższego i Gł. Zarz. Zw. Zaw. Nauczycielstwo Polskiego Życie Szkoły Wyższej — 12 × w roku — 48 zł — półrocznie.

Przedpłatę na 2-gie półrocze 1954 r. należy przekazywać na konto PKO Nr 1-110-28504 Warszawa, PPK „Ruch" z zaznaczeniem na blankiecie tytułu zamawianego czasopisma. Zamówienie na prenumeratę 2-go półrocza przyjmują do 10 czerwca br. także urzędy pocztowe i listonosze.